

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ACTIVITÉ PHYSIQUE

PAR
SYLVAIN BERNIER

ÉTUDE PAR LA MICRODIALYSE DE L'EFFET INHIBITEUR DU LACTATE SUR
LA LIPOLYSE ADIPOCYTAIRE

JUILLET 1998

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

RÉSUMÉ

Cette étude avait pour but de vérifier à l'aide de la microdialyse, l'effet potentiellement inhibiteur du lactate sur l'activité lipolytique adipocytaire chez 8 sujets entraînés soumis à 120 min d'exercice à 50% du $\dot{V}O_2$ max. Pour chaque sujet, deux sondes ont été implantées à 10 cm de part et d'autre de l'ombilic, une sonde contrôle perfusée au salin physiologique et une sonde lactate perfusée au salin physiologique contenant 16 mM de lactate. Une concentration de 16 mM fut utilisée afin de reproduire une concentration voisine à celle observée à l'exercice très intense. Le dialysat fut recueilli par intervalle de 10 min pendant les 30 min de repos, les 120 min d'exercice et les 30 min de récupération à un débit constant de perfusion de 2.5 μ l/min. Le protocole d'exercice, d'une intensité modérée, a permis d'augmenter significativement la concentration plasmatique de glycérol sans augmenter considérablement celle du lactate. Pendant l'exercice, les concentrations de glycérol dans les dialysats des sondes contrôle et lactate ont augmenté significativement ($p < 0.05$) et en relation avec les concentrations de glycérol et d'AGL plasmatiques. Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations de glycérol des sondes contrôle et lactate. En conclusion, les résultats de cette étude ne peuvent confirmer l'effet inhibiteur du lactate sur la lipolyse adipocytaire. À l'exercice, une augmentation de la concentration de glycérol dans le tissu adipeux en présence d'une concentration élevée de lactate pourrait s'expliquer par une diminution de la mobilisation des AGL ou une augmentation de leur

réestérification sans modification du taux de lipolyse. Cette hypothèse reste cependant à vérifier.

REMERCIEMENTS

Je tiens à souligner la disponibilité et l'assistance didactique de mon directeur de recherche, le Dr François Trudeau, pour la réalisation de ce mémoire. Je tiens également à remercier le Dr Isabelle de Glisezinski, M. François Dulac et M. Martin Milot pour leur précieuse collaboration, ainsi que le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada pour sa contribution financière. Enfin, je remercie ma compagne Jessica pour son appui et ses encouragements.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
RÉSUMÉ.....	i
REMERCIEMENTS.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
 CHAPITRES	
I. INTRODUCTION.....	1
Problématique.....	3
II. MOBILISATION ET UTILISATION DES LIPIDES.....	7
Fonction lipolytique de l'adipocyte.....	7
Régulation de la mobilisation des lipides au repos et à l'exercice.....	10
Mobilisation des lipides périphériques à l'exercice.....	12
Utilisation des lipides à l'exercice.....	13
Importance des lipides en fonction de l'intensité de travail.....	15
Effet du lactate sur la lipolyse adipocytaire.....	18
III. MÉTHODOLOGIE.....	20
Sujets.....	20
Protocole d'exercice.....	20

	Page
Technique expérimentale (perfusion et microdialyse).....	22
Prélèvements sanguins.....	27
Méthodes d'analyses.....	27
Traitements statistiques.....	31
IV. RÉSULTATS.....	32
Échantillons sanguins.....	32
Échantillons des dialysats.....	43
V. DISCUSSION.....	52
Effet inhibiteur du lactate sur la mobilisation des AGL.....	54
Effet indirect du lactate par la néoglucogenèse.....	55
Technique de microdialyse et perfusion au lactate.....	57
Autres mécanismes inhibiteurs.....	59
VI. CONCLUSION.....	63
RÉFÉRENCES.....	65

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Page
1. Caractéristiques individuelles des sujets.....	21
2. Réponses métabolique et hormonale au repos, à l'exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max et en récupération.....	33
3. Comportement de l'activité lipolytique et de la vascularisation du tissu adipeux au repos, à l'exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max et en récupération.....	45

LISTE DES FIGURES

Figures	Page
1. Adipocyte: fonction lipolytique.....	9
2. Sonde à microdialyse.....	23
3. Vue d'ensemble du système de la microdialyse.....	26
4. Déroulement du protocole expérimental.....	28
5. Concentration plasmatique d'adrénaline (pM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	35
6. Concentration plasmatique de noradrénaline (pM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	36
7. Concentration plasmatique des acides gras libres (mM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	38
8. Concentration plasmatique de glycérol (μ M) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	39
9. Concentration plasmatique d'insuline (pM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	41
10. Concentration plasmatique de glucose (mM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	42

Figures	Page
11. Concentration plasmatique de lactate (mM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	44
12. Concentration de glycérol (μ M) dans le dialysat issu de deux sondes lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	47
13. Éthanol (Pourcentage par rapport à la valeur totale contenue dans le perfusat) dans le dialysat issu de deux sondes lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.....	49
14. Concentration de lactate (mM) dans le perfusat et dans le dialysat (à 10 min de repos) de la sonde perfusée au lactate.....	51

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Le métabolisme énergétique est étudié chez l'humain depuis de nombreuses années. En particulier, depuis la fin des années 1960, plusieurs physiologistes de l'exercice et autres chercheurs en biologie humaine se sont intéressés aux substrats utilisés au repos et à l'exercice afin de mieux comprendre les mécanismes gérant la performance d'athlètes ou les états pathologiques tels que l'obésité et le diabète.

Ce travail de recherche s'intéresse aussi au métabolisme énergétique chez l'humain. Plus spécifiquement, l'activité lipolytique du tissu adipeux sous-cutané à l'exercice fut étudiée. Les lipides contenus dans le tissu adipeux constituent la réserve énergétique la plus importante quantitativement chez l'humain, soit 70 980 kcal contre 1538 kcal en glucose et glycogène pour un individu de 65 kg et 12% de masse grasse (Wilmore et Costill, 1994). Le rôle du tissu adipeux est donc de premier ordre puisqu'au repos, l'utilisation des lipides représente environ 46% du total des besoins énergétiques et à l'exercice, selon la durée et l'intensité, cette utilisation représente jusqu'à 90% (Bülow, 1993).

La connaissance des facteurs stimulant ou inhibant la lipolyse adipocytaire et la mobilisation des acides gras libres (AGL) s'avère d'une grande importance dans plusieurs contextes impliquant le métabolisme énergétique. Deux exemples illustrent bien l'application de ces principes de biochimie.

1. Nous savons que pour les athlètes pratiquant une discipline d'endurance (*e.g.* le marathon), une des principales limites à leur performance réside dans la déplétion des

réserves en glycogène musculaire et hépatique (Fitts et Metzger, 1993). Or nous savons également que le taux d'oxydation des acides gras libres (AGL), fraction des triacylglycérols issus des adipocytes, est globalement déterminé par deux facteurs: premièrement, par la capacité oxydative des tissus et, deuxièmement, par la disponibilité des AGL dans le plasma (Bülow, 1993). Par conséquent, une concentration élevée d'AGL dans le plasma pourrait contribuer à retarder la déplétion des réserves en glycogène et à améliorer la performance d'athlètes de disciplines d'endurance (Costill, Coyle, Dalsky, Evans, Fink, et Hoopes, 1977).

2. Pour une population obèse, la connaissance des facteurs stimulant la lipolyse adipocytaire est particulièrement importante. En effet, la disponibilité et l'utilisation accrues des AGL contribuent directement à la perte de masse adipeuse. Cependant, nous savons qu'à l'exercice à une même intensité relative et absolue, les sujets sédentaires utilisent davantage les glucides comme substrat énergétique que les sujets entraînés (Brooks et Mercier, 1994). Pour les individus obèses, la prescription d'activité physique permettant une mobilisation et une utilisation optimales des AGL s'avère donc essentielle d'autant que c'est aussi à une intensité faible que l'exercice peut être toléré par ces individus.

Le lactate, produit final de la glycolyse anaérobie, semble avoir une influence importante sur le métabolisme du tissu adipeux. Trois équipes d'auteurs (Boyd, Giamber, Mager et Lebovitz, 1974; Fredholm, 1971; et Issekutz et Miller, 1962) se sont intéressées à l'effet inhibiteur du lactate. Bien que les conclusions ne soient pas unanimes, tous

s'entendent sur la relation inverse entre la concentration de lactate et la concentration d'AGL plasmatiques. Dans cette étude, nous avons donc voulu comprendre les conclusions opposées en certains points, de ces trois publications. Entre autres, nous avons évalué l'effet et le mode d'action du lactate spécifiquement dans le tissu adipeux.

Problématique

Comme mentionné précédemment, la capacité oxydative des tissus et la disponibilité des AGL dans le plasma sont des facteurs déterminants du taux d'oxydation des AGL plasmatiques (Bülow, 1993). Ce phénomène étant connu, plusieurs facteurs hormonaux et nerveux ont été étudiés afin de comprendre les mécanismes stimulant ou inhibant l'activité lipolytique et la mobilisation des AGL.

Le rôle du système nerveux sympathique dans la lipolyse adipocytaire a été démontré à maintes reprises (Crampes, Rivière, Beauville, Marceron et Garrigues, 1989; Mauriège, Prud'homme, Lemieux, Tremblay et Després, 1995). L'adrénaline et la noradrénaline, deux hormones lipolytiques, sont principalement responsables de la lipolyse dans le tissu adipeux chez l'humain (Bülow, 1993). L'insuline, seule hormone antilipolytique en importance chez l'humain, constitue l'un des principaux facteurs limitatifs de la mobilisation des AGL du tissu adipeux (Bülow, 1993). Cependant, plusieurs auteurs ont démontré qu'il pouvait y avoir diminution de la mobilisation des AGL sans augmentation de la libération d'insuline (Boyd et al., 1974; Issekutz et Miller, 1962). Ces mêmes auteurs se sont intéressés à l'effet inhibiteur du lactate sur le métabolisme du tissu adipeux.

Le lactate, produit final de la glycolyse anaérobie, semble influencer négativement la mobilisation des lipides. Trois équipes d'auteurs (Boyd et al., 1974; Fredholm, 1971; Issekutz et Miller, 1962) ont observé un effet inhibiteur du lactate sur la mobilisation des AGL. Bien que tous s'entendent sur la relation inverse entre les concentrations d'AGL et de lactate, les conclusions s'opposent en ce qui a trait aux concentrations de glycérol.

Comme nous le verrons dans le prochain chapitre, la lipolyse et la mobilisation des AGL sont deux processus distincts. Le processus permettant la division, à l'intérieur de l'adipocyte, d'un triacylglycérol en trois AGL et un glycérol est appelé *lipolyse* alors que nous appelons *mobilisation* la diffusion des AGL dans le plasma. Le glycérol étant utilisé comme indice du taux de lipolyse (Nurjhan, Kennedy, Consoli, Martin, Miles et Gerich, 1988), nous pouvons donc conclure qu'il n'existe pas actuellement de consensus à savoir si le lactate inhibe la mobilisation des AGL seule ou la lipolyse adipocytaire et la mobilisation des AGL. Aussi, par la microdialyse, une technique nouvellement utilisée pour l'étude du tissu adipeux, nous avons infusé une concentration connue de lactate dans le liquide interstitiel des adipocytes et mesuré l'effet sur la lipolyse adipocytaire. La microdialyse comporte plusieurs avantages comparativement aux méthodes utilisées dans le passé (*e.g.* différence artério-veineuse en glycérol) pour l'étude du tissu adipeux; entre autres, le glycérol recueilli dans le dialysat est issu seulement des adipocytes.

Problème posé

La problématique en est une qui concerne la biochimie appliquée à l'étude de l'activité lipolytique dans le tissu adipeux sous-cutané. Plus spécifiquement, le problème est de mesurer l'effet inhibiteur du lactate sur la lipolyse adipocytaire, cela de façon plus locale à l'aide de la microdialyse.

Notre recension des écrits en regard à notre problématique nous a permis de soulever certaines lacunes dans les trois publications s'intéressant à l'effet inhibiteur du lactate. Premièrement, peu d'articles (récents ou non) ont été publiés sur le sujet. Deuxièmement, les articles publiés, dans leur méthodologie, n'ont pas tous mesuré le glycérol afin de cerner l'effet inhibiteur du lactate. Troisièmement, dans les articles publiés ayant mesuré le glycérol, l'un d'eux (Boyd et al., 1974) a utilisé une technique (Seldinger) consistant à prélever du sang artériel, or celui-ci n'est pas spécifique au tissu adipeux et peut être contaminé par d'autres sources d'AGL et de glycérol. Les lipoprotéines circulantes sont par exemple, une source potentielle d'AGL et de glycérol à l'exercice prolongé (Terjung, Budohoski, Nazar, Kobrùn et Kaciuba-Uscilko, 1982). Quatrièmement, le second article ayant mesuré le glycérol (Fredholm, 1971) a utilisé une technique consistant à perfuser une ponction de tissu adipeux. Par cette technique *in vitro*, plusieurs facteurs hormonaux et nerveux ne sont pas reproduits tel que dans le milieu organique.

Hypothèse

Une concentration élevée de lactate aux alentours de l'adipocyte inhibe son activité lipolytique. Cela est vérifié par une diminution de la concentration de glycérol dans le dialysat.

CHAPITRE II

MOBILISATION ET UTILISATION DES LIPIDES

Fonction lipolytique de l'adipocyte

La lipolyse, synonyme d'hydrolyse des lipides, constitue le processus nécessaire et préalable au catabolisme des triacylglycérols. La lipolyse des triacylglycérols en 3 AGL et glycérol est nécessaire afin que les premiers puissent diffuser dans le plasma et subséquemment être oxydés ou réestérifiés.

Bülow (1993) illustre dans l'un de ses tableaux l'importance des lipides issus du tissu adipeux comme substrat énergétique à l'exercice. Les conclusions rapportées démontrent qu'après 4 heures d'effort modéré (50% du $\dot{V}O_2$ max) chez le chien, les AGL issus des tissus extramusculaires constituent 75% des substrats énergétiques utilisés. Bülow (1982) a également observé chez le chien, après 2 heures d'exercice, une augmentation de 400% de la mobilisation du glycérol issu du tissu adipeux sous-cutané. Chez l'humain, Wolfe, Klein, Carraro et Weber (1990) ont observé des résultats similaires. Puisque la disponibilité des AGL dans le plasma est l'un des facteurs favorisant leur oxydation (Bülow, 1993), l'hydrolyse des triacylglycérols contenus dans les adipocytes s'avère donc un processus essentiel d'approvisionnement énergétique à l'effort prolongé.

Activités enzymatiques de la lipolyse adipocytaire

Cette sous-section ainsi que la suivante sont principalement inspirées du Précis de biochimie de Harper (Murray, Granner, Mayes, et Rodwell, 1995) et du Biochemistry

Primer for Exercise Science (Houston, 1995). On y décrit les réactions enzymatiques impliquées dans la lipolyse et le processus de réestérification.

La figure 1 schématise l'ensemble du processus lipolytique de l'adipocyte. Deux types de récepteurs, les β -adrénocepteurs et les α -adrénocepteurs, agissent sur l'enzyme lipolytique clé de l'adipocyte, la lipase hormono-sensible. L'adénylate cyclase sous stimulation β -adrénergique, catalyse la formation d'AMP cyclique. Ce second messager active la protéine kinase dépendante de l'AMPc. La protéine kinase dépendante catalyse la phosphorylation et l'activation de la lipase hormono-sensible en une forme active.

La lipase hormono-sensible hydrolyse un triacylglycérol en diacylglycérol plus un acide gras, puis en monoacylglycérol plus un acide gras. L'hydrolyse du monoacylglycérol en un glycérol et un acide gras se fait par une enzyme spécifique, la monoacyl glycérol lipase. Le glycérol obtenu de cette hydrolyse, puisqu'inutilisable dans l'adipocyte par insuffisance de glycérokinase, diffuse dans le plasma. Pour cette raison, on l'utilise comme indice du taux de lipolyse. Les acides gras libres quant à eux s'accumuleront dans le *pool 1* (figure 1) pour leur diffusion dans le plasma ou leur réestérification.

Lipolyse et réestérification adipocytaire

L'adipocyte est l'objet d'un cycle continu de lipolyse des triacylglycérols et de réestérification des AGL. La réestérification est le processus permettant la liaison par un lien ester, d'un acide gras libre avec une molécule de glycérol 3-P, avec un monoacylglycérol ou avec un diacylglycérol. Ces acides gras libres peuvent provenir (a)

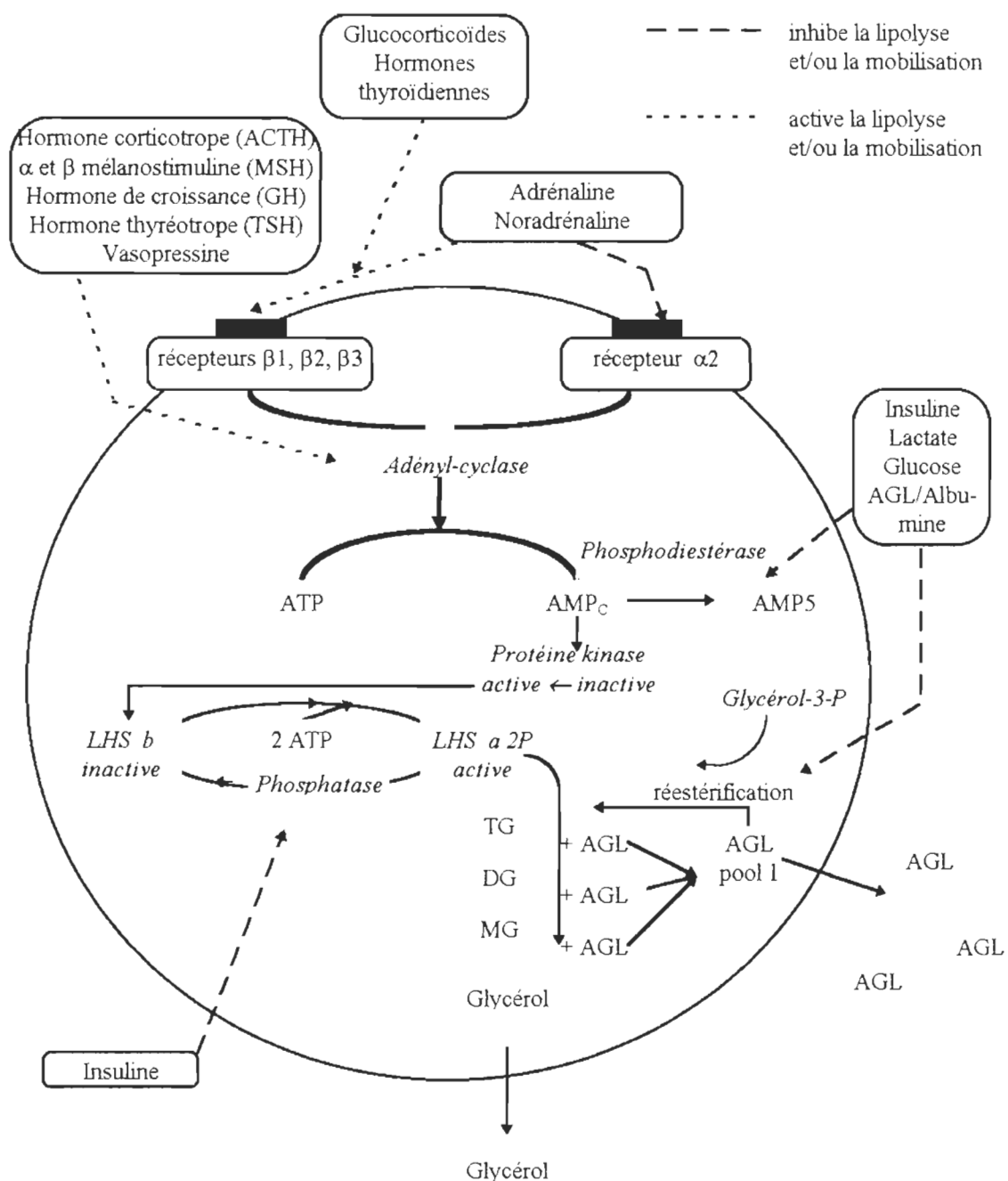


Figure 1. Adipocyte: fonction lipolytique (inspiré de Bülow, 1993)

du *pool 1* des AGL (soit de la lipolyse), (b) des lipides circulants (VLDL, chylomicrons, LDL, AGL) et (c) de la transformation du glucose 6-*P* en Acyl-CoA. Notons que le glucose est nécessaire à la réaction d'estérification des acides gras libres pour la formation subséquente de triacylglycérols. La phosphorylation du glucose 6-*P* constitue la seule source en importance de glycérol 3-*P* dans l'adipocyte.

Les triacylglycérols issus de la néolipogenèse et de la lipogenèse sont continuellement hydrolysés en AGL. Ceux-ci seront réestérifiés à moins que l'activité lipolytique ne soit supérieure à la réestérification. Dans ce cas, des AGL diffuseront dans le plasma à partir du *pool 1* des AGL et se lieront à l'albumine pour ainsi augmenter la concentration d'AGL plasmatiques (figure 1).

Régulation de la mobilisation des lipides au repos et à l'exercice

La régulation de la mobilisation des lipides au repos et à l'exercice se fait principalement via deux hormones lipolytiques, l'adrénaline et la noradrénaline ainsi qu'une antilipolytique, l'insuline (Bülow, 1993). Les catécholamines sont sécrétées par les glandes médullosurrénales (adrénaline, noradrénaline) et les terminaisons nerveuses sympathiques (noradrénaline). Elles agissent au niveau des récepteurs β -adrénergiques, stimulateurs de la lipolyse adipocytaire. Des récepteurs α -adrénergiques sensibles aux mêmes hormones mais dans des concentrations moins élevées, agissent par ailleurs comme inhibiteurs (Kather, Pries, Schrader, et Simon, 1980; Kather et Simon, 1977). Il semble qu'au repos, les mécanismes présents lors la lipolyse soient aussi régulés par les

récepteurs α -adrénergiques de l'adipocyte, c'est-à-dire par l'inhibition (Arner, Kriegholm, Engfeldt, et Bolinder, 1990).

Les glucocorticoïdes et les hormones thyroïdiennes facilitent l'utilisation des catécholamines comme stimulateurs β -adrénergiques. Les glucocorticoïdes activent également la protéine kinase et la lipase hormonosensible. D'autres hormones stimulent la formation d'adénylate cyclase dans l'adipocyte: l'hormone corticotrope (ACTH), l' α et la β -mélanostimuline (MSH), l'hormone de croissance (GH), l'hormone thyroïdienne (TSH), la vasopressine et le glucagon. Bien que ces hormones aient un effet lipolytique, les catécholamines demeurent les seules hormones ayant un effet aigu et prononcé sur la lipolyse chez l'humain (Arner, 1995).

Le second mécanisme en importance stimulant l'activité lipolytique à l'exercice est la chute de l'insulinémie (Bülow, 1993). L'insuline est la seule hormone entièrement antilipolytique en importance chez l'humain. Elle inhibe la formation d'adénylate cyclase et stimule la phosphodiesterase. Ces deux phénomènes entraînent une baisse de l'AMPc intracellulaire. De plus, l'insuline est responsable de la déphosphorylation de la lipase hormonosensible, rendant l'enzyme inefficace pour l'hydrolyse des triacylglycérols et la libération subséquente d'AGL (Nilsson, Stralfors, Fredrikson, et Belfrage, 1980). L'insuline conserve ses propriétés antilipolytiques même chez les obèses diabétiques non-insulinodépendants (Arner, 1988). La résistance à l'insuline, connue chez cette population, diminue l'utilisation du glucose par l'adipocyte sans affecter l'effet antilipolytique de cette hormone.

Mobilisation des lipides périphériques à l'exercice

À l'exercice modéré de plus de quatre heures, les lipides peuvent couvrir jusqu'à 90% des besoins énergétiques (Bülow, 1993). L'activité lipolytique est principalement stimulée par une activité sympathoadrénergique accrue et une diminution de la concentration d'insuline plasmatique (Galbo, 1983). Il a été démontré que les récepteurs β -adrénergiques jouent un rôle important dans la lipolyse adipocytaire lors d'un exercice prolongé. Un blocage de ces derniers entraîne une augmentation plus faible (~66%) du glycérol plasmatique qui est un indice du taux de lipolyse dans le tissu adipeux (Arner et al., 1990).

La quantité d'acides gras libres mobilisée dépend de deux facteurs: (a) l'activité lipolytique, (b) la compétition entre la pénétration des acides gras libres dans le sang et leur réestérification à l'intérieur de l'adipocyte. Quatre principaux éléments influencent cette compétition.

1. Les acides gras libres sont transportés par des molécules d'albumine. Un ratio artériel élevé d'acides gras libres/albumine favorise la réestérification aux dépens de la mobilisation (Bülow et Madsen, 1981; Madsen, Bülow et Nielsen, 1986; Scow, 1965).

2. Il a été démontré chez l'animal, qu'une concentration artérielle élevée de lactate est aussi en corrélation avec une réestérification élevée (Fredholm, 1971).

3. Un ratio artériel élevé d'acides gras libres/albumine entraîne une résistance vasculaire du tissu adipeux gênant le transport des acides gras libres vers le sang (Bülow, Madsen, Astrup, et Christensen, 1985).

4. L'exercice prolongé favorise la vasodilatation du tissu adipeux facilitant le transport des AGL dans le sang (Bülow, 1983; Larsen, Myhre, Vik-Mo, et Mjös, 1981).

À l'exercice, Bülow et Madsen (1986) proposent la séquence suivante en ce qui a trait aux étapes de la mobilisation des acides gras libres: (a) stimulation des facteurs sympathoadrénérquiques et diminution de l'insulinémie favorisant l'activité lipolytique; (b) diminution de la résistance vasculaire du tissu adipeux facilitant le transport des acides gras libres dans le sang; (c) les acides gras libres mobilisés sont en quantité élevée et supérieure au besoin, conséquemment, le ratio AGL/albumine s'élève; (d) un ratio élevé, comme mentionné précédemment, entraîne deux rétroactions, une vasoconstriction du tissu adipeux et une augmentation de la réestérification créant ainsi un équilibre entre la mobilisation et l'utilisation des AGL.

Utilisation des lipides à l'exercice

Les acides gras libres en circulation dans le sang doivent pénétrer dans la cellule musculaire afin de fournir l'énergie nécessaire à la resynthèse d'ATP puis à la contraction musculaire. Les AGL plasmatiques entrent dans le muscle par différence de gradient entre les deux milieux. Les AGL sont transférés du compartiment sanguin vers le myocyte en fonction de l'affinité des protéines de transport avec les sites de liaison situés sur la membrane plasmique de la cellule (Bulöw, 1993). Ce processus d'échange suffit à régulariser l'entrée des AGL proportionnellement à leur taux d'oxydation (Noy, Donnelly et Zakim, 1986). Un second mécanisme permettant le transport des AGL dans la cellule musculaire pourrait également être impliqué. En effet,

un transporteur au niveau de la membrane plasmatique pourrait régulariser l'importation des AGL à l'intérieur de la cellule (Potter, Sorrentino, et Berk, 1989; Turcotte, Kiens, et Richter, 1991).

Les AGL ayant passé la membrane plasmatique sont transformés en Acyl-CoA pour ensuite être transportés vers les mitochondries et la β -oxydation ou être réestérifiés et emmagasinés au niveau des triacylglycérols intramusculaires. Dans le cas de la β -oxydation, le passage de la membrane mitochondriale se fait via un transporteur, la carnitine (Fritz, 1963). Celle-ci est emplacée sous forme d'enzymes (acyl-carnitine transférase) sur la paroi externe et interne de la membrane mitochondriale. Des enzymes spécifiques convertissent respectivement les acyl-CoA en acyl-carnitines (externe) et dans un deuxième temps les acyl-carnitines en acyl-CoA (interne) qui sera la forme utilisable dans la β -oxydation.

L'utilisation des lipides à l'exercice nécessite certaines prédispositions. Un exercice modéré de longue durée tire jusqu'à 90% de ses besoins énergétiques des lipides; alors que pour une charge de travail élevée (70% et plus du $\dot{V}O_2$ max), les glucides sont principalement utilisés (Bülow, 1993). D'autres facteurs peuvent également influencer l'utilisation des graisses. La diète, le niveau d'entraînement, la proportion de fibres musculaires à contraction lente, les réserves intramusculaires de glycogène et les conditions climatiques sont susceptibles d'interagir avec les mécanismes en question.

Importance des lipides en fonction de l'intensité de travail

Les mécanismes déterminant la proportion de l'utilisation des lipides et glucides à l'exercice semblent complexes et souvent incohérents. Brooks et Mercier (1994) résument dans une revue les mécanismes agissant sur la sélection des substrats. Afin de mieux comprendre le patron de sélection, ils appellent "crossover point" l'intensité de travail où la proportion des glucides utilisée devient plus importante que celle des lipides selon une intensité croissante de l'exercice. Cette proportion de glucides continue de croître en fonction de l'intensité de travail. Bülow (1993) affirme qu'à l'effort modéré les lipides constituent le principal substrat énergétique, dans une proportion pouvant atteindre 90%; alors qu'à l'effort intense, les glucides sont principalement utilisés. Différents facteurs influencent la sélection de ces substrats. Brooks et Mercier (1994) citent à cet effet, le niveau d'entraînement et l'intensité de travail qui, selon le "crossover concept", affectent l'intensité où la proportion des glucides devient plus importante que celle des lipides.

Effet de l'entraînement

L'entraînement en endurance apporte des adaptations biochimiques musculaires permettant une meilleure oxydation des lipides et diminuant l'activité du système nerveux sympathique pour un exercice sous-maximal donné (Brooks et Mercier, 1994). Ces adaptations favorisent l'oxydation des lipides à l'exercice de faible et moyenne intensité. Quatre conclusions appuient cette hypothèse. (a) L'entraînement augmente la masse mitochondriale des myocytes (Kirkwood, Packer et Brooks, 1987) et permet

d'offrir un taux d'oxydation des lipides plus élevé. (b) L'entraînement diminue le quotient respiratoire (Gollnick, 1985). Le quotient respiratoire est un indice de la proportion de l'utilisation des substrats énergétiques. (c) L'entraînement diminue la quantité de catécholamine et de lactate plasmatique pour une même intensité d'exercice (Brooks, 1985). Une quantité plus faible de lactate suite à l'entraînement illustre bien que la voie de la glycolyse est substituée par l'oxydation des lipides. (d) L'entraînement permet une substitution du glycogène musculaire (Gollnick, 1985), c'est-à-dire qu'après l'entraînement, pour un exercice donné (*e.g.* 90 min de vélo) les réserves en glycogène connaissent une diminution plus faible.

Effet de l'intensité de travail

L'intensité de travail tout comme l'entraînement semble affecter la sélection des substrats énergétiques. À une intensité élevée, le taux absolu d'utilisation des substrats augmente avec comme source principale, les glucides (O'Brien, Viguie, Mazzeo, et Brooks, 1993). Chez des sujets en bonne condition physique, dans un exercice d'intensité élevée, l'utilisation totale des glucides augmente de 15 fois par rapport à celle de repos, alors que la contribution des lipides, bien qu'elle augmente légèrement en valeur absolue, diminue en valeur relative. En augmentant l'intensité de travail, on modifie le patron de recrutement des fibres musculaires vers les fibres de type II (glycolytiques); on augmente ainsi la glycolyse musculaire. L'activité du système nerveux sympathique est également augmentée. L'adrénaline stimule la glycolyse musculaire (fibres de type II) menant à la formation de lactate (Connert, Honig, Gayeski

et Brooks, 1990). Or, le lactate semble avoir un effet inhibiteur sur la mobilisation des AGL (Boyd et al., 1974; Fredholm, 1971; Issekutz et Miller, 1962) et par le fait même peut contribuer à limiter le taux d'oxydation des lipides. De plus, dans le muscle squelettique, à une haute intensité de travail, les enzymes glycolytiques sont plus actives que les enzymes lipolytiques favorisant également la glycogénolyse musculaire.

Contrôle hormonal de la sélection des substrats

L'adrénaline semble avoir un effet hiérarchique dans le métabolisme énergétique et un rôle prépondérant dans le "crossover point" de l'utilisation des substrats énergétiques. À une intensité de travail faible à modérée, la concentration plasmatique d'adrénaline augmente légèrement (Lehmann, Wybitul, Spori et Keul, 1982). Cette activité du système nerveux sympathique (SNS), bien que modérée, apporte un effet lipolytique. Cependant lorsque l'activité du SNS s'élève davantage, conséquemment à une intensité de travail plus élevée, l'adrénaline stimule la glycogénolyse musculaire (Deuster, Chrousos, Luger, DeBolt, Bernier, Trostmen, Kyle, Montgomery et Loriaux, 1989). Dans ces conditions, la concentration de lactate augmente (Connett et al., 1990) inhibant la mobilisation des AGL (Boyd et al., 1974; Fredholm, 1971; Issekutz et Miller, 1962). Notons également que pour un exercice donné (*e.g.* 90 min de vélo), l'augmentation de l'adrénaline sera moins grande suite à l'entraînement favorisant ainsi la lipolyse plutôt que la glycogénolyse (Deuster et al., 1989).

Effet du lactate sur la lipolyse adipocytaire

Le lactate semble influencer négativement la lipolyse adipocytaire à l'exercice. En effet, trois publications s'intéressant à l'effet du lactate sur les adipocytes ont suggéré un effet inhibiteur sur la lipolyse et la mobilisation des AGL ou sur la mobilisation des AGL seule.

Issekutz et Miller (1962) ont observé lors de deux expérimentations un effet du lactate sur la mobilisation des AGL. Tout d'abord, ils ont observé une relation inverse entre la concentration de lactate plasmatique et la concentration d'AGL circulants à l'exercice chez le chien. Ils ont ensuite mené une seconde expérimentation où ils ont observé, chez le chien perfusé avec de l'acide lactique, une diminution importante des AGL plasmatiques au moment où la concentration d'acide lactique sanguine augmente par infusion intraveineuse. Tout comme pour leur première expérimentation, lorsque le niveau de lactate diminue, la concentration d'AGL augmente. L'étude statistique des courbes corrélationnelles AGL/acide lactique de chacune des expérimentations a démontré que la diminution des AGL était associée à l'acide lactique et non pas à l'exercice en soi. De plus, la diminution des AGL ne peut être expliquée par la dilution du plasma à l'exercice ou par la libération d'insuline. Cette étude fut l'une des premières à s'intéresser à l'effet du lactate sur la mobilisation des AGL. Cependant certaines questions sont demeurées sans réponse. Entre autres le lactate affecte-t-il la mobilisation des AGL seule ou affecte-t-il également la lipolyse?

Fredholm (1971) a démontré que dans le tissu adipeux perfusé chez le chien, une concentration accrue de lactate favorise la réestérification des AGL dans l'adipocyte sans affecter la diffusion du glycérol dans le plasma, nous permettant ainsi de croire que le lactate n'a pas d'effet inhibiteur sur la lipolyse adipocytaire mais bien sur la mobilisation des acides gras libres. Cependant, les données de Boyd et al. (1974) contredisent celles de Fredholm (1971). Les premiers ont observé chez l'humain qu'une augmentation de la concentration artérielle de lactate, de pyruvate ou les deux étaient en corrélation avec une diminution de la concentration d'AGL et de glycérol plasmatiques. L'auteur apporte l'hypothèse suivante afin d'expliquer le phénomène: le lactate pourrait affecter le niveau d'AMPc, élément important de la chaîne de réactions biochimiques de la lipolyse adipocytaire. À l'exercice intense, les AGL diffusant dans le plasma deviendraient excédentaires lorsque le métabolisme énergétique se tourne vers le glycolyse pour combler les besoins énergétiques. Bien que plusieurs facteurs hormonaux stimulent alors la lipolyse, le lactate, par son action antilipolytique, donnerait un signal inhibiteur à l'adipocyte afin que la diffusion des AGL s'adapte au métabolisme anaérobie.

CHAPITRE III

MÉTHODOLOGIE

Rappelons que le but de cette recherche consistait à mesurer l'effet du lactate sur l'activité lipolytique dans le tissu adipeux sous-cutané. Spécifiquement, nous désirions vérifier l'hypothèse suivante: une concentration élevée de lactate aux alentours de l'adipocyte inhiberait son activité lipolytique. Cela aurait été vérifié par une diminution de la concentration de glycérol dans le dialysat.

Sujets

Huit (8) sujets masculins ont été sollicités dans cette étude (tableau 1). Les sujets étaient âgés de 20 à 35 ans et présentaient une condition physique de bonne à excellente selon la mesure directe de consommation maximale d'oxygène (Vacumed, CA) estimée lors d'une épreuve maximale sur ergocycle. Les sujets possédaient également un taux d'adiposité moyen selon leur pourcentage de graisse (formule de Brozek). Les sujets sont demeurés sédentaires et n'ont pas consommé de caféine 24 heures avant l'expérimentation.

Protocole d'exercice

Les sujets ont été soumis à un exercice sous-maximal à 50% du $\dot{V}O_2$ max, en fonction de la charge fixe (tableau 1). Cette intensité de travail est suffisamment élevée pour augmenter la mobilisation des AGL dans le plasma sans augmenter la concentration de lactate pour des sujets en bonne condition physique. Pour s'en assurer, des prélèvements de sang pour l'analyse du lactate ont été effectués pendant l'épreuve. Cet

Tableau 1
Caractéristiques individuelles des sujets

Sujet	Âge (année)	Pourcentage de graisse	$\dot{V}O_2$ max (ml*kg ⁻¹ *min ⁻¹)	Charge sous-maximale (Watts)
1	34	6.63	63.16	150
2	23	7.34	54.78	150
3	25	13.96	55.33	150
4	22	7.97	67.06	160
5	30	10.96	47.57	140
6	25	16.28	66.42	150
7	22	8.94	54.76	130
8	25	6.83	69.84	170
	25.75 ±1.49	9.86 ±1.27	59.86 ±2.77	150 ±4.23

exercice a été réalisé sur ergocycle (Lode, Belgique) pendant 120 minutes. Les sujets se sont présentés à huit heure le matin. Ils avaient préalablement consommé à 6h30 un petit déjeuner standardisé, sans caféine que nous leur avons fourni.

Technique expérimentale (perfusion et microdialyse)

Généralités

La microdialyse est utilisée aujourd'hui pour l'investigation du tissu adipeux *in situ* mais elle fut par ailleurs utilisée pendant les 20 dernières années principalement pour l'étude du cerveau chez le rat (Ungerstedt, 1984). Cette technique permet de mesurer en continu les variations de certains métabolites du milieu extracellulaire du tissu adipeux. Du fait que la microdialyse s'applique localement, elle permet de connaître l'effet d'agents actifs métaboliquement, comme le lactate, sans pour autant affecter l'ensemble de l'organisme (Arner et Bolinder, 1991).

Les sondes microdialysantes (figure 2) d'une longueur variant entre 10 et 70 mm, sont constituées de matériaux semi-rigides. On y retrouve à une extrémité une membrane poreuse et perméable permettant la circulation des liquides et le passage de certaines molécules de poids moléculaire inférieur à 20 kDa. Deux canules intègrent la sonde, la première faisant pénétrer le soluté (perfusé) jusqu'à la membrane, permettant ainsi des échanges entre les deux milieux, et la deuxième pompant le liquide (dialysat) afin d'en faire l'analyse. Dans cette étude, la molécule étudiée dans le dialysat est le glycérol car elle est un bon indice du taux de lipolyse adipocytaire (Nurjhan et al., 1988).

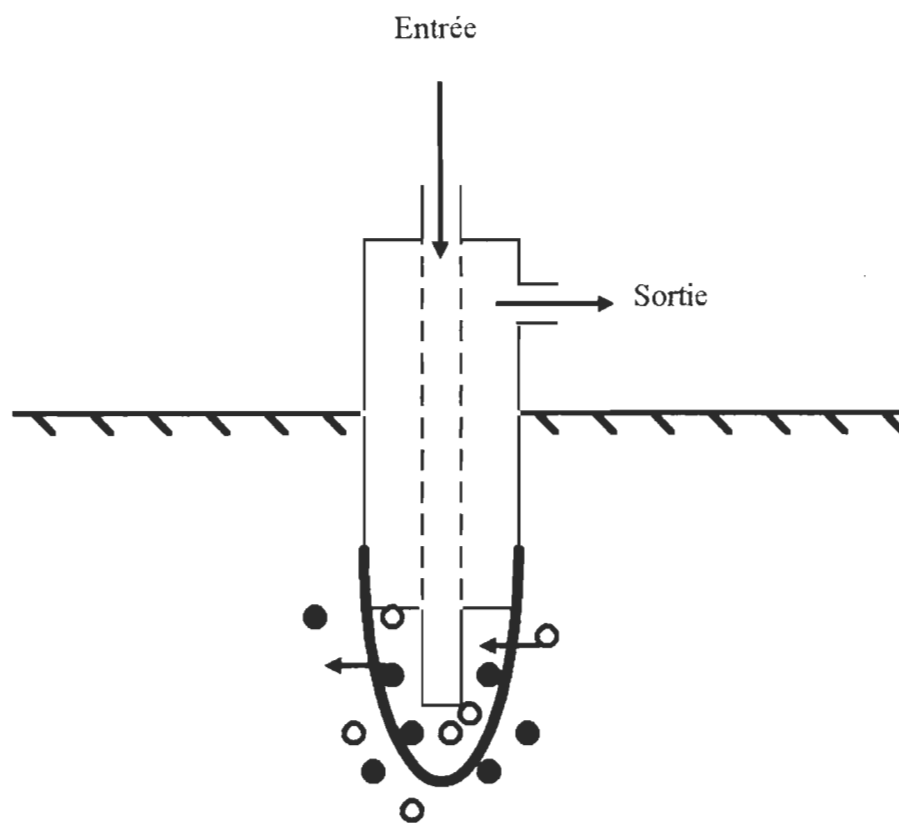


Figure 2. Sonde à microdialyse (inspiré de Arner et Bolinder, 1991)

Le processus d'échange entre la sonde et le milieu organique est le suivant: le soluté perfusé par une canule, dans notre cas le salin physiologique et le lactate, pénètre à travers la membrane perméable par différence de gradient. Le soluté affecte ensuite le milieu organique. La seconde canule recueille le dialysat contenant une certaine concentration des éléments perfusés et certains métabolites du milieu organique, dans notre cas le glycérol. Précisons que le glycérol (0.85 kDa) et le lactate (0.90 kDa) par leur poids moléculaire circulent facilement à travers la membrane dialysante de la sonde. Arner et Bolinder (1991) rapportent à cet effet l'efficacité de la microdialyse pour l'étude du glycérol et du lactate dans le tissu adipeux.

L'une des principales lacunes rencontrées dans l'utilisation de la microdialyse réside dans la capacité de récupération des métabolites issus du milieu extracellulaire. En effet, trois éléments affectent la capacité de récupération des métabolites dans le dialysat: la perméabilité de la membrane dialysante en regard de la molécule recueillie, la longueur de la membrane dialysante et la vitesse de perfusion. Il est donc d'un intérêt majeur de contrôler ces variables afin de connaître la quantité réelle de glycérol dans le tissu adipeux. Dans cette étude, notre intérêt ne fut pas arrêté spécifiquement sur la quantité réelle de glycérol dans le tissu adipeux mais plutôt sur les différences de quantité. Nous avons tout de même cru bon d'expliquer l'une des méthodes de calibration afin de déterminer le rendement de la sonde.

Jacobson, Sanberg et Hamberger (1985) ont développé, pour la microdialyse, une technique de calibration utilisant différentes vitesses de perfusion (*e.g.* 0.3, 0.5, 1.5 et 2.5

$\mu\text{l}/\text{min}$) afin de connaître la concentration réelle des métabolites étudiés dans le cerveau chez le rat. Connaissant les concentrations pour différentes vitesses de perfusion, il fut possible de tracer la courbe des concentrations en fonction des débits. Il fut également possible d'extrapoler cette courbe jusqu'à un débit fictif de $0 \mu\text{l}$ et d'estimer indirectement les concentrations réelles des métabolites étudiés. De Glisezinski, Harant, Crampes, Trudeau, Felez, Cottet-Émard, Garrigues et Rivière (1996) ont démontré par la même technique de calibration que l'utilisation d'une sonde possédant une surface dialysante de 31.4 mm^2 (longueur: 20 mm, diamètre: 0.5 mm) à une vitesse de perfusion de $2.5 \mu\text{l}/\text{min}$ permettait un pourcentage de récupération du glycérol dans le tissu adipeux de 41%.

Procédure

Deux sondes à microdialyse CMA-20 (20 mm x 5 mm, 20 000 Mw Carnegie Medicin, Stockholm, Suède) ont été insérées à 10 cm de part et d'autre de l'ombilic. Du salin physiologique fut utilisé comme perfusat pour la sonde de gauche, aussi appelée sonde contrôle. Du salin physiologique contenant du lactate (16mM) fut perfusé dans la sonde de droite, aussi appelée sonde lactate. Les sondes lactate et contrôle ont été randomisées pour les huit sujets. Une concentration de 16 mM fut utilisée afin de reproduire une concentration voisine de celle observée à l'exercice très intense. L'insertion fut effectuée sous anesthésie locale à la xylocaïne sans adrénaline. Une pompe à infusion (Harvard, Pump 22) a contrôlé la vitesse de perfusion à un taux de $2.5 \mu\text{l}/\text{min}$ (figure 3). Après une période de stabilisation de 30 min, 18 prélèvements ont été

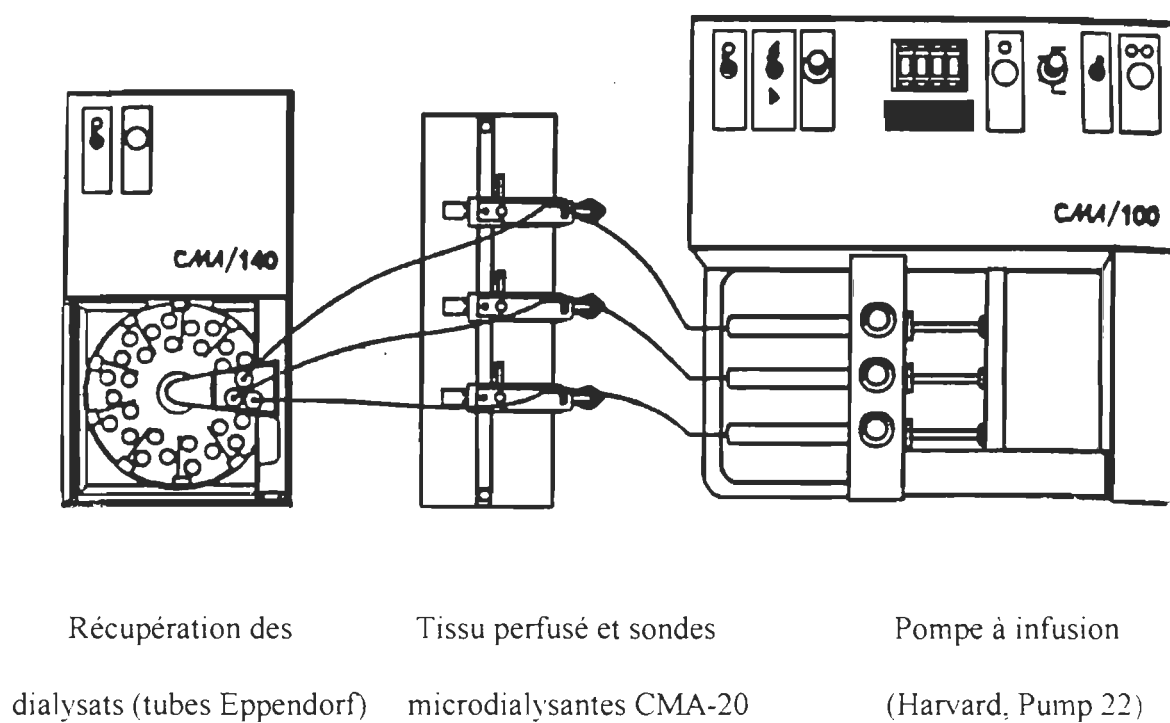


Figure 3. Vue d'ensemble du système de la microdialyse (Eliasson, 1991).

effectués, chacun sur une période de 10 minutes. Tel qu'illustré à la figure 4, le protocole d'exercice s'étala sur 120 min précédé de 30 min de repos et suivi de 30 min de récupération. La première fraction de 10 minutes fut conservée pour le dosage du lactate et les 17 autres fractions pour le dosage du glycérol et de l'éthanol. Les fractions ont été congelées à -80°C jusqu'au moment de leur analyse.

Prélèvements sanguins

Un cathéter a été mis en place au niveau de la veine antécubitale du côté droit. Des prélèvements sanguins ont été effectués aux moments suivants: à 20 et 30 min de repos, à 30, 60, 90 et 120 min d'exercice et à 10 et 30 min de récupération. Les échantillons ont été centrifugés et le plasma conservé à -80°C pour y doser les concentrations de glucose (Sigma, USA), d'insuline (Immunocorp, Canada), de glycérol (par bioluminescence), d'acides gras libres (Boehringer-Mannheim, Allemagne), de lactate (Sigma, USA) et des catécholamines plasmatiques (Amersham, USA).

Méthodes d'analyses

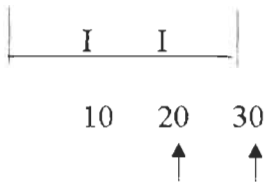
Glucose

Le glucose fut dosé à l'aide d'une trousse commerciale (Sigma, USA) utilisant des réactions enzymatiques. Selon cette méthode, le nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) est produit à partir du glucose par des réactions de phosphorylation et d'oxydation impliquant respectivement l'hexokinase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase. Le NADH libéré proportionnellement à la concentration de glucose, est mesuré par absorbance de lumière au spectrophotomètre (Serozyme II, Serono Diagnostics) à 340 nm.

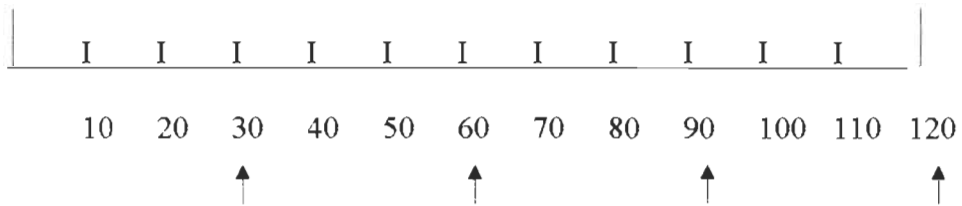
Stabilisation (2.5 $\mu\text{l}/\text{min}$)



Repos (2.5 $\mu\text{l}/\text{min}$)



Exercice (2.5 $\mu\text{l}/\text{min}$)



Récupération (2.5 $\mu\text{l}/\text{min}$)

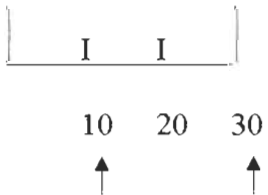


Figure 4. Déroulement du protocole expérimental (les flèches indiquent un prélèvement sanguin).

Lactate

Le lactate fut dosé à l'aide d'une trousse commerciale (Sigma, USA) utilisant l'action d'enzymes colorimétriques. Selon cette méthode, l'acide lactique sous l'action de la lactate oxydase et de la peroxydase, produit une coloration. L'absorbance de cette coloration est mesurée au spectrophotomètre (Serozyme II, Serono Diagnostics) à 540 nm. Les valeurs obtenues sont comparées à une mesure étalon contenant 4,44 mM d'acide lactique.

Acides gras libres non estérifiés (AGL)

Les acides gras libres furent dosés à l'aide d'une trousse commerciale (Boehringer Mannheim, Allemagne) utilisant l'action d'enzymes. Selon cette méthode, les acides gras libres sous l'action de l'acyl-CoA synthétase, de l'acyl-CoA oxydase et de la peroxydase produisent une coloration dont l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (Serozyme II, Serono Diagnostics) à 546 nm.

Insuline

L'insuline fut dosée à l'aide d'une trousse commerciale (Immunocorp, Canada) utilisant une technique radioimmunologique. Selon cette technique, de l'insuline marquée à l'iode 125 compétitionne l'insuline non marquée afin de se lier aux anticorps de la paroi interne des tubes. La quantité de radioactivité mesurée au compteur gamma (Riastar, Packard A Camberra Company) est inversement proportionnelle à la quantité d'insuline des échantillons. La concentration de ceux-ci est estimée par interpolation sur la courbe standard tracée selon les valeurs obtenues des mesures étalons.

Catécholamines

L'adrénaline et la noradrénaline furent dosées à l'aide d'une trousse commerciale (Amersham, USA) utilisant une technique radioenzymatique. Selon cette technique, l'adrénaline et la noradrénaline sont transformées respectivement en métanéphrine et normétanéphrine au cours d'une réaction catalysée par la catéchol O-méthyltransférase en présence de S-adenosyl-L-méthionine radioactive. La chromatographie sur couche mince est ensuite utilisée afin d'isoler la métanéphrine et la normétanéphrine. Une fois recueillies, celles-ci sont oxydées en vanilline par le périodate. Les échantillons sont ensuite lus au compteur bêta (Riastar, Packard A Camberra Company), la radioactivité étant proportionnelle à la quantité de catécholamine. Les concentrations sont calculées en fonction d'un étalon interne inclus dans le dosage de chaque échantillon.

Glycérol

Le glycérol fut dosé par bioluminescence d'après la technique de Kather, Schroder et Simon (1982). Selon cette technique, une enzyme bactérienne, la luciférase, permettrait l'émission de lumière proportionnellement à la quantité de NADH auquel elle s'est liée. Le glycérol transformé en 3-phospho-glycérate au cours d'une réaction enzymatique libère une quantité proportionnelle de NADH. Un distributeur LKB 1291 injecte la luciférase dans l'échantillon alors qu'un bioluminomètre LKB Wallac 1251 (LKB Stockholm, Suède) mesure la quantité de lumière produite.

Éthanol

L'éthanol fut dosé d'après la technique de Lim et Buttery (1977) utilisant l'action d'enzymes. Selon cette technique, l'éthanol est transformé en acétaldehyde lors d'une réaction catalysée par l'alcool déshydrogénase. À partir du NADH libéré dans cette réaction, un précurseur chromogène produit une coloration. L'absorbance de cette coloration est mesurée au spectrophotomètre (Serozyme II, Serono Diagnostics) à 505 nm.

Traitements statistiques

Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm erreur type de la moyenne. Une analyse de variance à deux dimensions par mesures répétées a été utilisée suivie d'un test à posteriori de Student-Newman-Keuls. Un $p < 0.05$ fut retenu comme critère de significativité statistique. L'analyse de ces données a été réalisée à l'aide d'un logiciel statistique scientifique (SigmaStat 1.0, Jandel Corporation, USA).

CHAPITRE IV

RÉSULTATS

Échantillons sanguins

Comme mentionné précédemment dans la section méthodologie (figure 4), huit échantillons de plasma par sujet (deux au repos, quatre à l'exercice et deux en récupération) ont été prélevés afin de doser l'adrénaline, la noradrénaline, les acides gras libres, le glycérol, le glucose, l'insuline, et le lactate. Ces résultats sont également présentés dans le tableau 2.

Adrénaline (figure 5)

La valeur moyenne obtenue à 30 min (117.70 ± 21.50 pM) de repos est conforme aux valeurs normales observées chez des individus au repos (Murray et al., 1995). À 120 min d'exercice (1992.90 ± 487.40 pM), une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration d'adrénaline plasmatique est observée. Le même phénomène apparaît à 60 min d'exercice (608.70 ± 103.80 pM) sans cependant être significatif. Nous observons également une diminution significative ($p < 0.05$) à 30 min de récupération (401.90 ± 84.30 pM).

Noradrénaline (figure 6)

La valeur moyenne obtenue à 30 min (827.80 ± 113.30 pM) de repos est conforme aux valeurs normales observées chez des individus au repos (Murray et al., 1995). À 60 min (2784.00 ± 404.10 pM) et 120 min d'exercice (3270.60 ± 404.60 pM), une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration

Tableau 2

Réponses métabolique et hormonale au repos, à l'exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max et en récupération.

Paramètres	Repos		Exercice				Récupération	
	20 min	30 min	30 min	60 min	90 min	120 min	10 min	30 min
Adrénaline (pM)		117.70 ±21.50		608.70 ±103.80		1992.90* ±487.40		401.90** ±84.30
Noradrénaline (pM)		827.80 ±113.20		2784.00* ±404.10		3270.60* ±404.60		1229.00** ±146.70
Insuline (pM)	100.30 ±22.63	85.00 ±12.66	38.30** ±6.07	32.90** ±6.71	29.30** ±6.24	19.30** ±3.36	43.00 ±7.55	24.80 ±3.38
Glucose (mM)	5.96 ±0.797	5.31 ±0.37	4.61** ±0.21	4.98 ±0.17	4.56** ±0.24	4.39** ±0.19	4.86 ±0.29	4.81 ±0.24

Tableau 2 (suite)

Paramètres	Repos		Exercice				Récupération	
	20 min	30 min	30 min	60 min	90 min	120 min	10 min	30 min
Acide gras libre (mM)	0.17 ±0.03	0.19 ±0.03	0.17 ±0.03	0.30* ±0.06	0.47* ±0.08	0.78* ±0.09	1.61* ±0.15	1.33** ±0.19
Glycérol (μM)	35.70 ±3.11	35.10 ±5.20	79.80 ±16.24	155.70* ±34.43	238.50* ±44.88	294.40* ±50.35	258.00 ±39.36	182.80** ±37.34
Lactate (mM)	1.44 ±0.249	1.43 ±0.17	2.55* ±0.46	1.92 ±0.23	1.67 ±0.18	1.54 ±0.14	1.50 ±0.12	1.24 ±0.08

* Augmentation significative $p < 0.05$

** Diminution significative $p < 0.05$

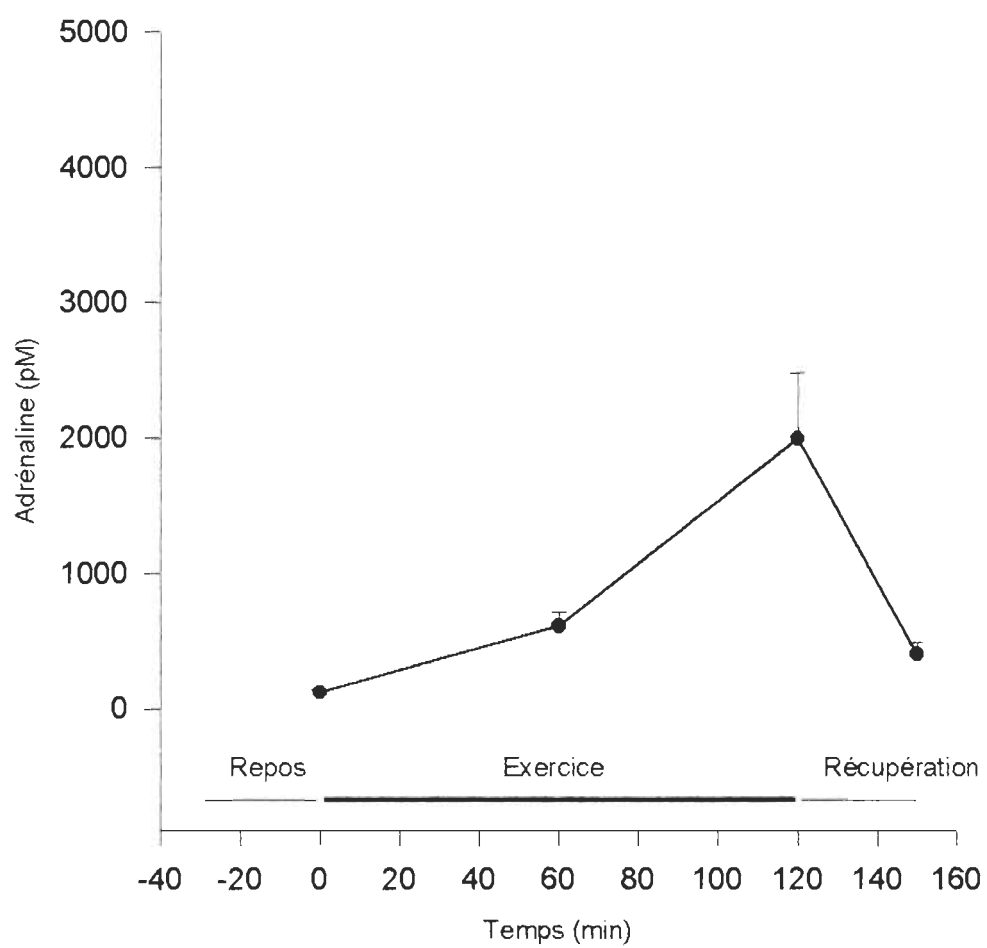


Figure 5. Concentration plasmatique d'adrénaline (pM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

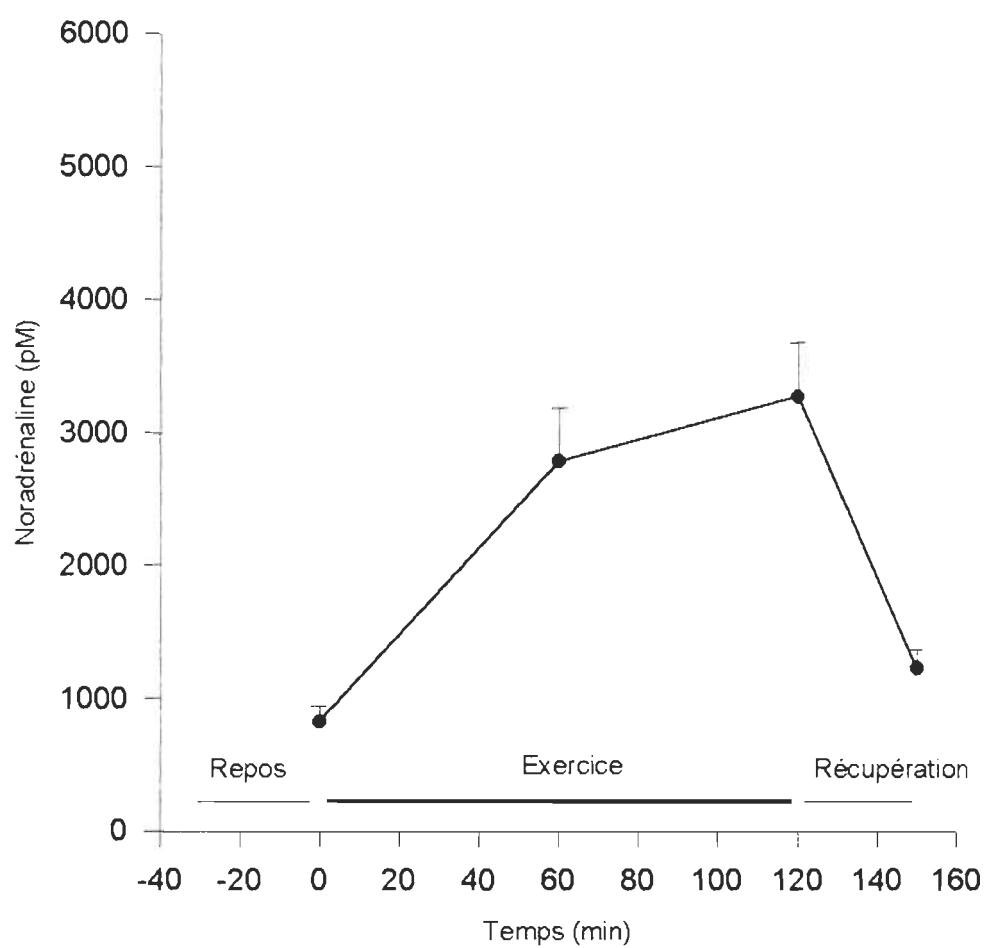


Figure 6. Concentration plasmatique de noradrénaline (pM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

plasmatique de noradrénaline est observée. Nous observons également une diminution significative à 30 min de récupération (1229.00 ± 146.70 pM).

Acides gras libres (AGL) (figure 7)

Les valeurs moyennes observées à 20 min (0.17 ± 0.03 mM) et 30 min de repos (0.19 ± 0.03 mM) sont conformes aux valeurs normales observées chez des individus au repos (Wilmore et Costill, 1994). Notons que des différences significatives ($p < 0.05$) ont été observées entre la majorité des valeurs moyennes de chacune des périodes de prélèvement. Seules les valeurs moyennes à 20 min (0.17 ± 0.03 mM) et 30 min de repos (0.19 ± 0.03 mM) et à 30 min d'exercice (0.17 ± 0.03 mM) n'ont pas été significatives entre-elles. Soulignons les caractéristiques suivantes observées dans l'analyse de ces données: (a) les valeurs de repos sont significativement plus faibles ($p < 0.05$) que celles observées à l'exercice, (b) plus la durée de l'exercice se prolonge plus les concentrations d'AGL plasmatiques s'élèvent, (c) la valeur moyenne à 10 min de récupération (1.61 ± 0.15 mM) est nettement plus élevée ($p < 0.05$) que celles observées à l'exercice et (d) une diminution significative ($p < 0.05$) est observée à 30 min de récupération (1.33 ± 0.19 mM).

Glycérol (figure 8)

Les valeurs moyennes observées à 20 min (35.70 ± 3.11 μ M) et 30 min de repos (35.10 ± 5.20 μ M) sont conformes aux valeurs observées dans la littérature chez des individus au repos (Boyd et al., 1974; Jones, Heigenhauser, Kuksis, Matsos, Sutton et

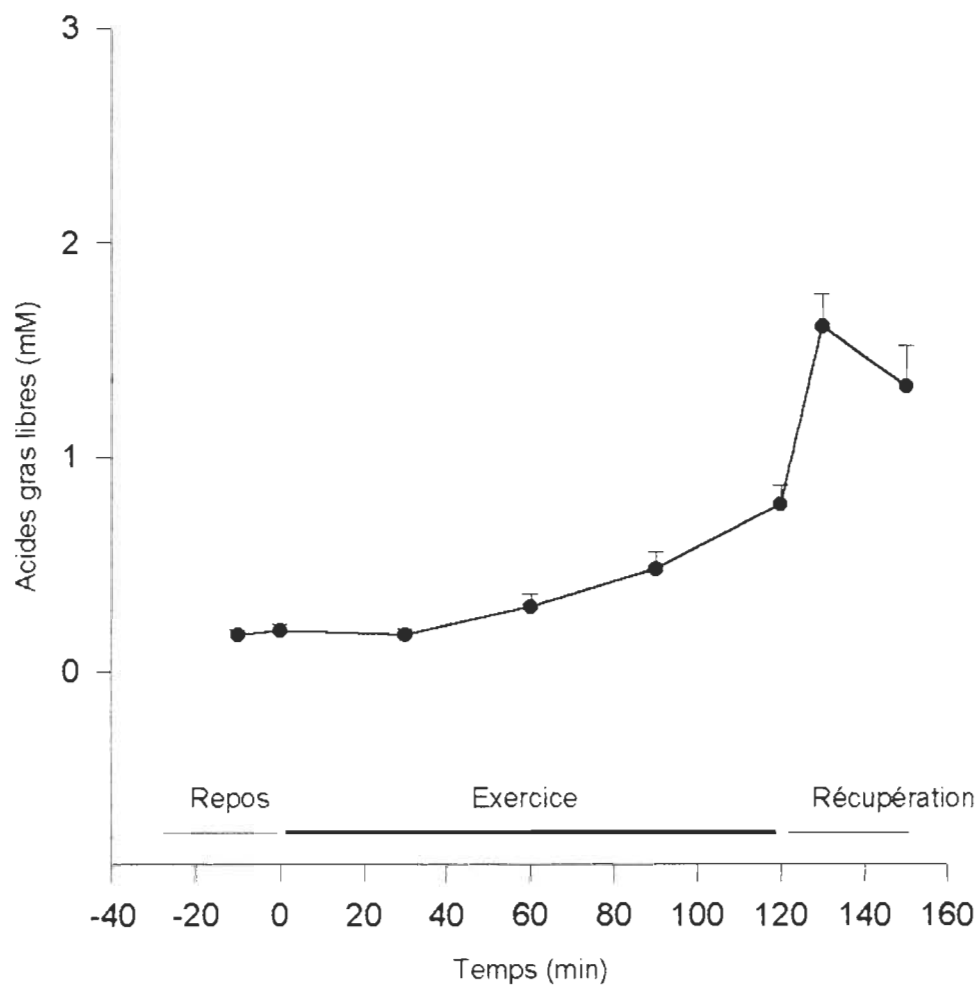


Figure 7. Concentration plasmatique des acides gras libres (mM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

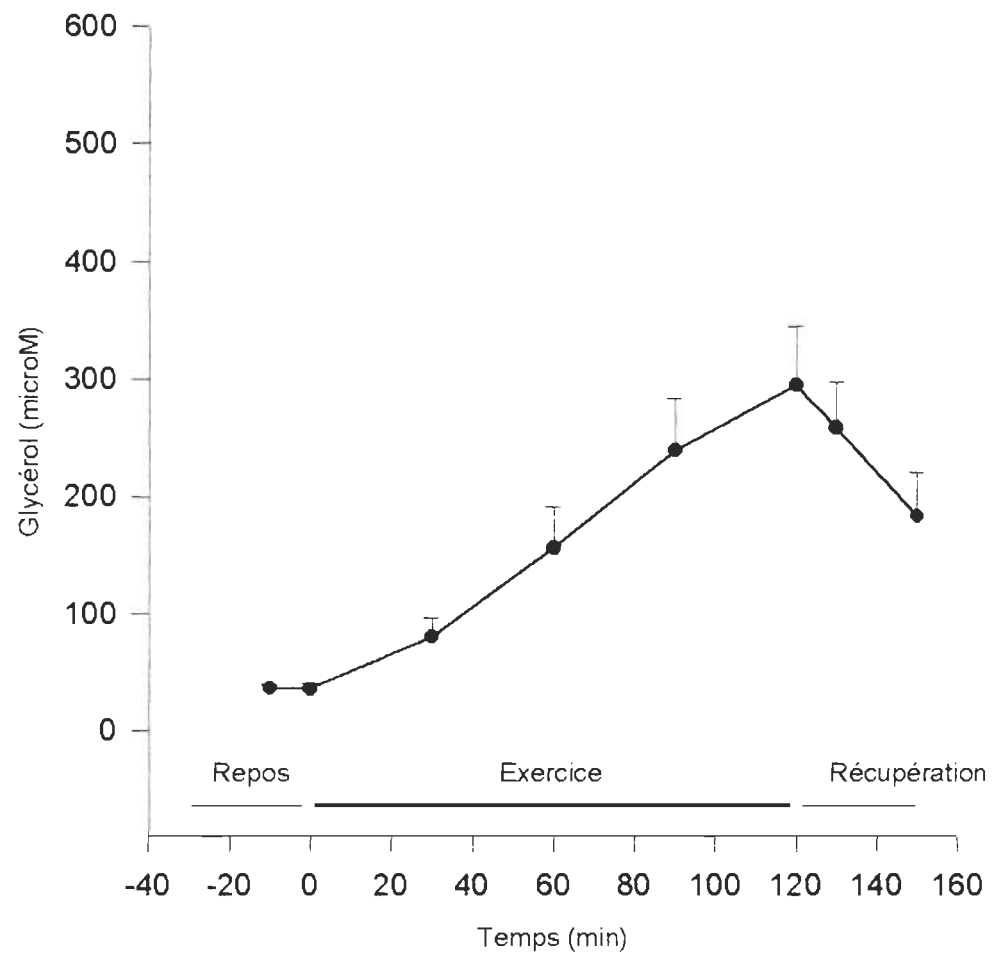


Figure 8. Concentration de glycérol plasmatique (μM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}\text{O}_2$ max.

Toews, 1980). Une augmentation significative ($p<0.05$) de la concentration de glycérol plasmatique est observée à 60 min ($155.70\pm34.43 \mu\text{M}$), 90 min ($238.50\pm44.88 \mu\text{M}$) et 120 min d'exercice ($294.40\pm50.35 \mu\text{M}$). Nous observons également une diminution significative ($p<0.05$)    30 min de récupération ($182.80\pm37.34 \mu\text{M}$).

Insuline (figure 9)

Les valeurs moyennes observées à 20 min ($100.30\pm22.63 \text{ pM}$) et 30 min de repos ($85.00\pm12.66 \text{ pM}$) sont conformes aux valeurs normales observées chez des individus au repos (Murray et al., 1995). Une diminution significative ($p<0.05$) de la concentration plasmatique d'insuline est observée à l'exercice. Une légère augmentation (non-significative, $p<0.05$) de l'insulinémie est observée à 10 min de récupération ($43.00\pm7.55 \text{ pM}$).

Glucose (figure 10)

Les valeurs moyennes observées à 20 min ($5.96\pm0.80 \text{ mM}$) et 30 min de repos ($5.31\pm0.37 \text{ mM}$) sont conformes aux valeurs normales observées chez des individus au repos (Murray et al., 1995). Une diminution significative ($p<0.05$) de la concentration de glucose plasmatique est observée à 30 min ($4.61\pm0.21 \text{ mM}$), 90 min ($4.56\pm0.24 \text{ mM}$), et 120 min d'exercice ($4.39\pm0.19 \text{ mM}$) comparativement aux valeurs de repos. Aucune différence significative n'a été observée en récupération.

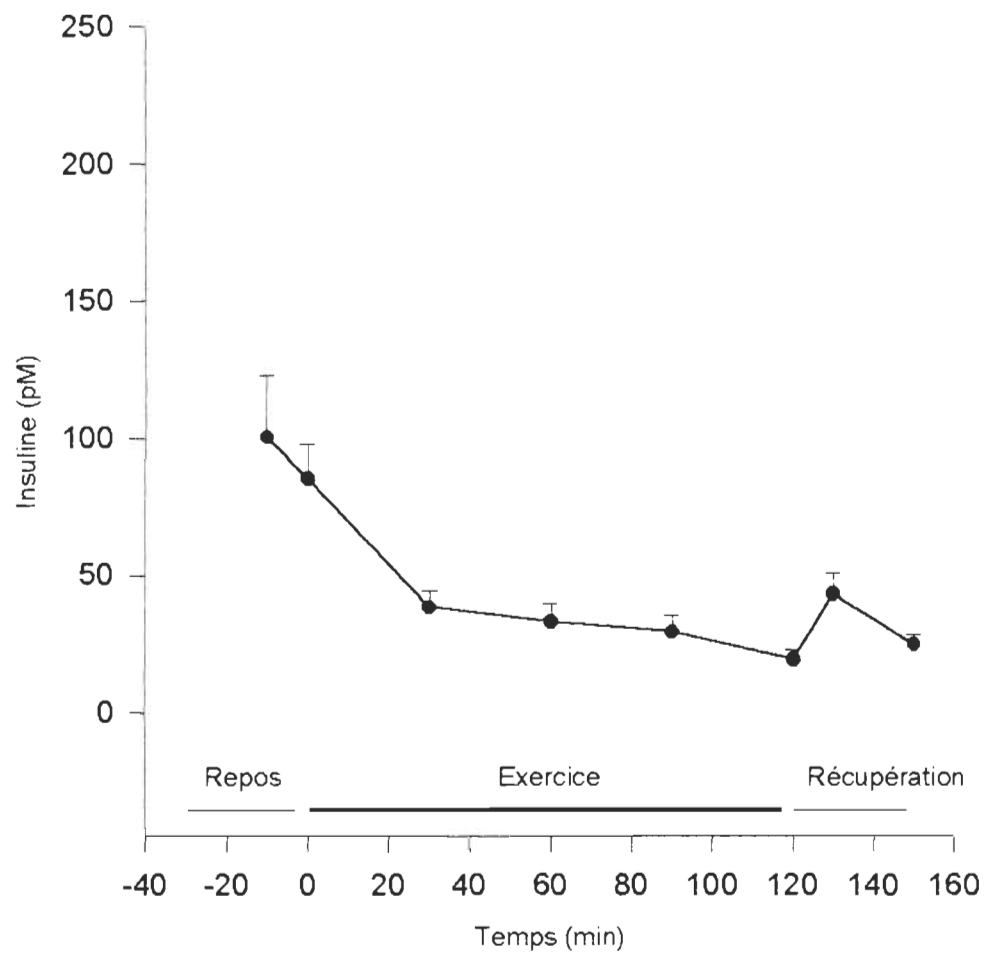


Figure 9. Concentration plasmatique d'insuline (pM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

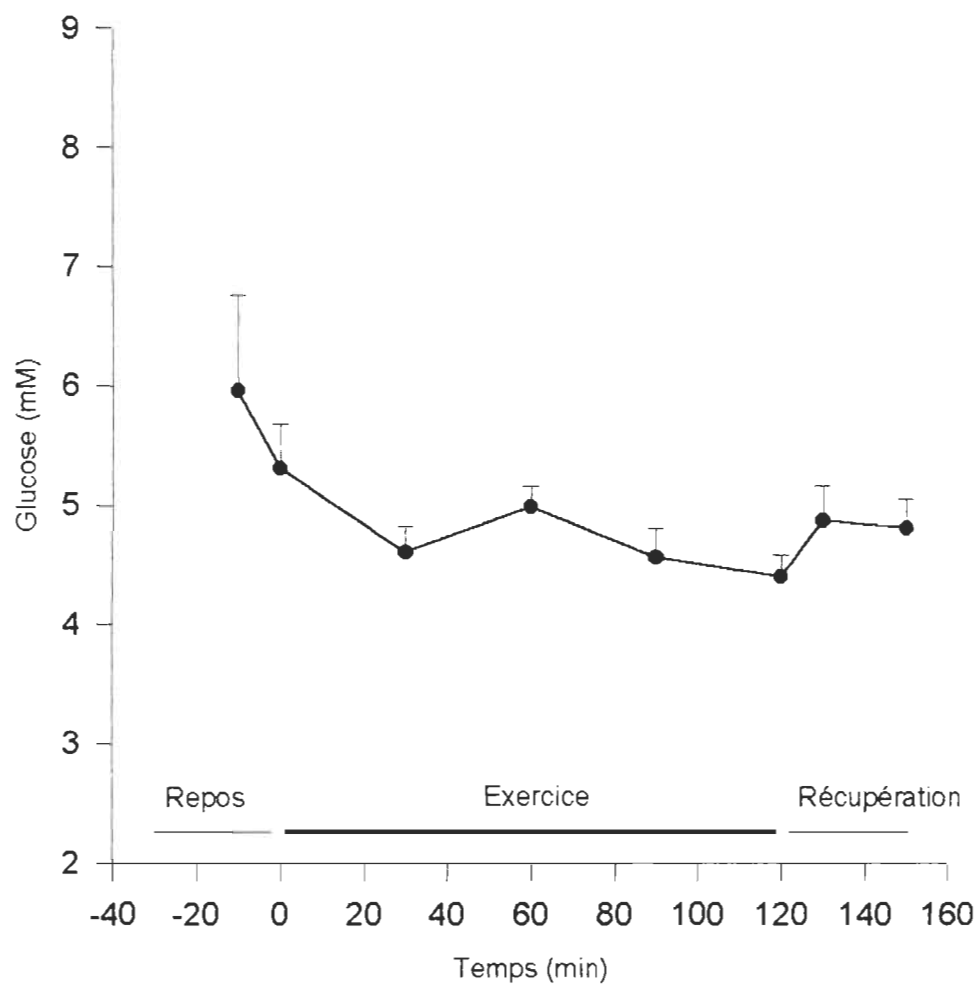


Figure 10. Concentration plasmatique de glucose (mM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

Lactate (figure 11)

Les valeurs moyennes observées à 20 min (1.44 ± 0.25 mM) et 30 min de repos (1.43 ± 0.17 mM) sont conformes aux valeurs normales observées chez des individus au repos (Murray et al., 1995). Une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration de lactate plasmatique est observée à 30 min d'exercice (2.55 ± 0.46 mM). La lactatémie revient cependant à des valeurs significativement plus basses après les 30 premières minutes d'exercice. Aucune différence significative n'a été observée en récupération. Tel que nous l'avions souhaité, le protocole d'exercice a permis d'augmenter significativement la concentration plasmatique d'AGL des sujets sans augmenter considérablement leur concentration de lactate.

Échantillons des dialysats

Comme mentionné précédemment dans la section méthodologie (figure 4), 18 échantillons de dialysat par sujet (3 au repos, 12 à l'exercice et 3 en récupération) ont été prélevés afin d'y doser le lactate, le glycérol et l'éthanol. Ces résultats sont également présentés dans le tableau 3.

Glycérol issu de la sonde contrôle (figure 12)

Nous observons une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration de glycérol dans le dialysat de la période de 40 min d'exercice (92.60 ± 11.37 μ M) à la période de 120 min d'exercice (174.50 ± 22.47 μ M). L'augmentation de la concentration de glycérol s'exprime de façon linéaire et en accord avec les concentrations de glycérol et d'AGL plasmatiques pendant la même période. Nous observons également une

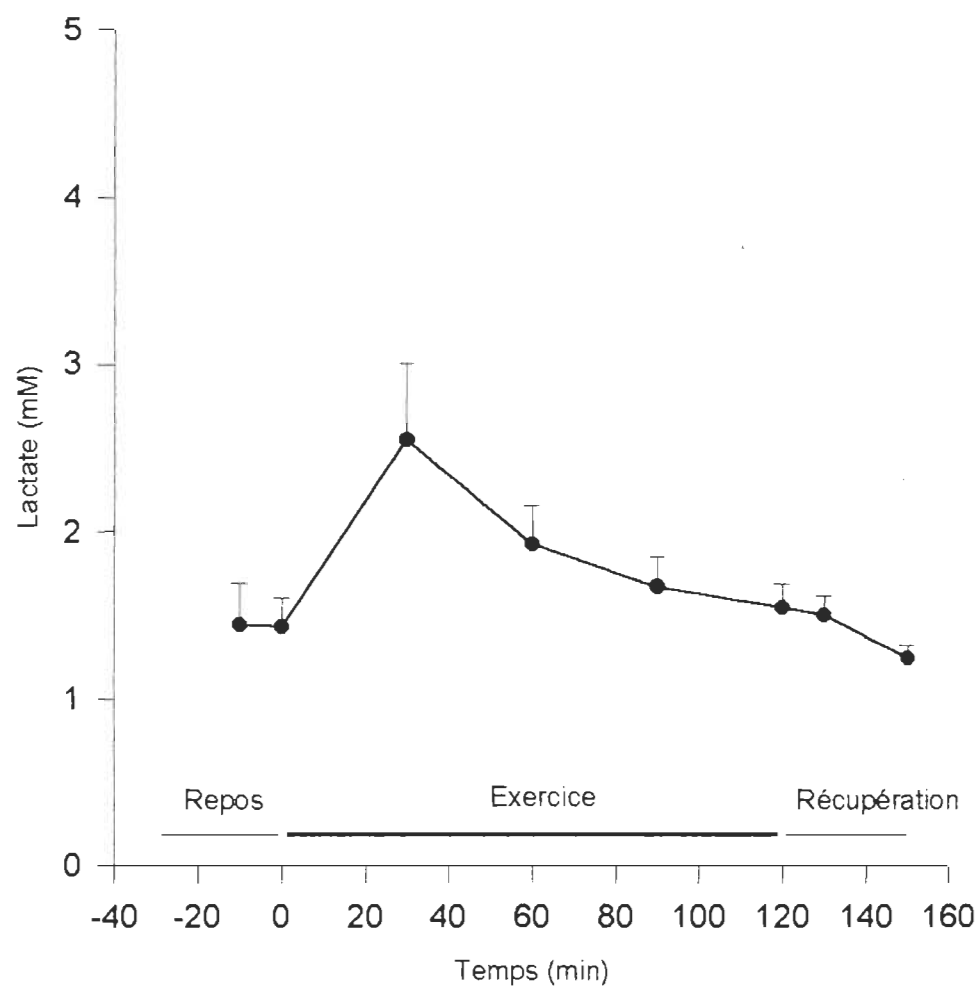


Figure 11. Concentration plasmatique de lactate (mM) lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

Tableau 3

Comportement de l'activité lipolytique et de la vascularisation du tissu adipeux au repos, à l'exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max et en récupération.

	Temps (min)	Glycérol dialysat (μ M)		Éthanol dialysat (%)	
		Sonde contrôle	Sonde lactate	Sonde contrôle	Sonde lactate
R e p o s	20	40.20 \pm 6.11	43.10 \pm 5.02	63.30 \pm 8.06	62.70 \pm 5.30
	30	40.60 \pm 6.18	43.00 \pm 4.95	66.30 \pm 6.18	61.90 \pm 5.61
	10	48.30 \pm 7.65	49.40 \pm 6.95	52.80 \pm 8.28	60.50 \pm 5.19
E x e r c i c e	20	62.20 \pm 6.28	58.40 \pm 8.80	61.00 \pm 5.01	60.30 \pm 5.82
	30	74.30 \pm 10.15	69.90 \pm 8.88	61.30 \pm 3.59	63.10 \pm 5.41
	40	92.60 \pm 11.37*	79.70 \pm 9.23*	67.20 \pm 4.13	60.80 \pm 3.89
	50	105.20 \pm 12.49*	91.90 \pm 11.02*	69.00 \pm 3.98	63.60 \pm 5.08
	60	118.20 \pm 12.64*	105.40 \pm 12.78*	67.00 \pm 3.24	66.90 \pm 4.32
	70	130.10 \pm 12.77*	124.00 \pm 14.92*	70.30 \pm 4.11	64.10 \pm 5.57
	80	135.50 \pm 11.76*	148.60 \pm 16.58*	69.40 \pm 3.85	66.10 \pm 5.33
	90	141.70 \pm 12.40*	155.60 \pm 15.72*	68.50 \pm 5.04	65.30 \pm 4.50
	100	148.20 \pm 14.61*	157.70 \pm 14.98*	74.90 \pm 4.62	69.00 \pm 4.86
	110	165.10 \pm 23.72*	183.10 \pm 19.96*	68.70 \pm 6.19	72.50 \pm 5.64
	120	174.50 \pm 22.47*	187.40 \pm 20.50*	73.40 \pm 4.58	67.60 \pm 5.67

Tableau 3 (suite)

	Temps (min)	Glycérol dialysat (μ M)		Éthanol dialysat (%)	
		Sonde contrôle	Sonde lactate	Sonde contrôle	Sonde lactate
R é c u p .	10	137.80 \pm 18.28	149.60 \pm 16.10**	76.10 \pm 4.84	71.00 \pm 6.13*
	20	123.10 \pm 16.27**	123.30 \pm 17.90**	72.70 \pm 5.36	69.90 \pm 5.03*
	30	108.60 \pm 15.64**	99.30 \pm 12.03**	71.40 \pm 4.76	72.10 \pm 5.88*

* Augmentation significative $p < 0.05$

** Diminution significative $p < 0.05$

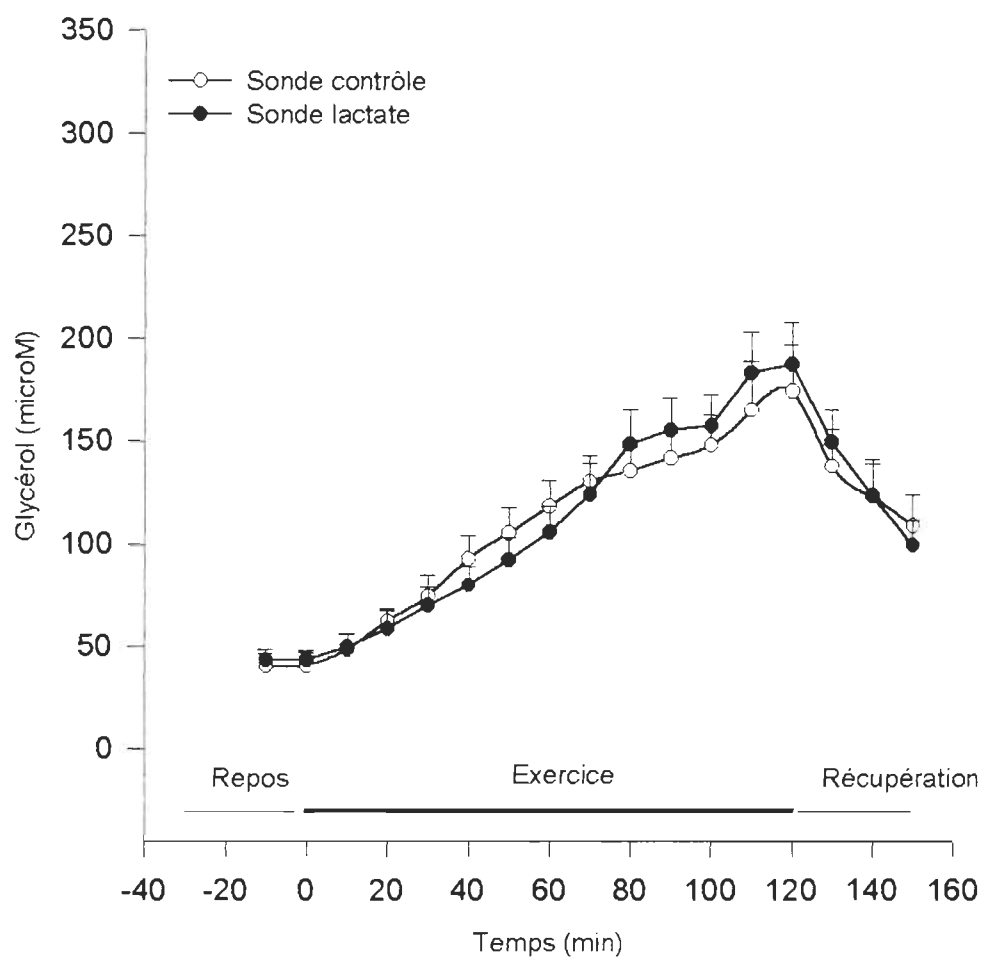


Figure 12. Concentration de glycérol (μM) dans le dialysat issu de deux sondes lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}\text{O}_2$ max.

diminution significative ($p<0.05$) à 20 min ($123.10\pm16.27 \mu\text{M}$) et 30 min de récupération ($108.60\pm15.64 \mu\text{M}$).

Glycérol issu de la sonde lactate (figure 12)

Nous observons une augmentation significative ($p<0.05$) de la concentration de glycérol dans le dialysat de la période de 40 min ($79.70\pm9.23 \mu\text{M}$) à la période de 120 min d'exercice ($187.40\pm20.50 \mu\text{M}$). Tout comme pour la sonde contrôle, cette augmentation s'exprime de façon linéaire et en accord avec les concentrations de glycérol et d'AGL plasmatiques pendant la même période. Une diminution significative ($p<0.05$) est également observée à 10 min ($149.60\pm16.10 \mu\text{M}$), 20 min ($123.30\pm17.90 \mu\text{M}$) et 30 min de récupération ($99.30\pm12.03 \mu\text{M}$). Aucune différence significative n'a été observée comparativement aux concentrations de glycérol de la sonde contrôle.

Éthanol (figure 13)

L'éthanol (20%) perfusé avec du salin physiologique fut recueilli dans le dialysat et estimé en pourcentage par rapport à la valeur totale de départ (perfusé). En ce qui a trait aux échantillons contrôles, aucune différence significative n'a été observée entre les valeurs au repos, à l'exercice et en récupération bien que les résultats expriment une tendance vers une concentration d'éthanol plus élevée en fin de période d'exercice et en récupération. En ce qui a trait aux échantillons issus de la sonde lactate, une augmentation significative ($p<0.05$) de la concentration d'éthanol est observée à 10 min ($71.00\pm6.13 \%$), 20 min ($69.90\pm5.03\%$) et 30 min de récupération ($72.10\pm5.88\%$). Cela est en accord avec la tendance observée pour les échantillons contrôles. Enfin, aucune

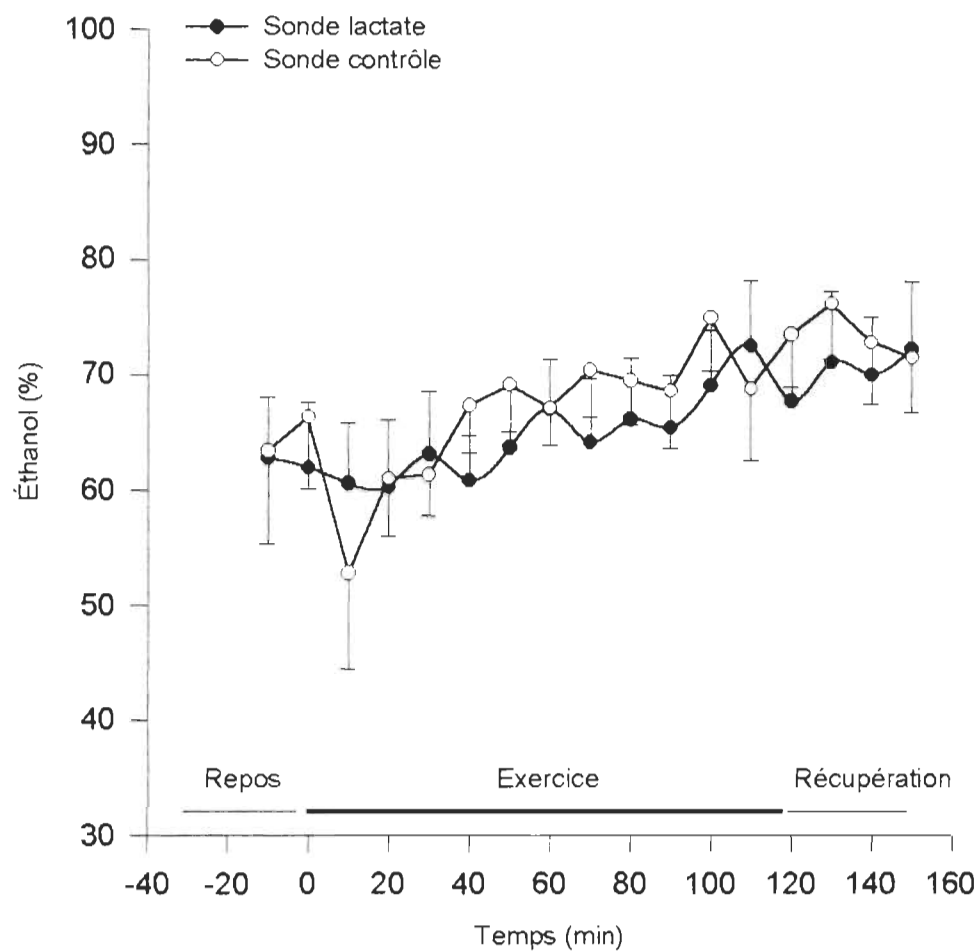


Figure 13. Pourcentage d'éthanol (par rapport à la valeur totale contenue dans le perfusat) dans le dialysat issu de deux sondes lors d'un exercice prolongé à 50% du $\dot{V}O_2$ max.

différence significative n'a été observée entre les pourcentages d'éthanol des échantillons contrôles et ceux des échantillons lactates.

Lactate (figure 14)

Les dialysats recueillis à 10 min de repos furent utilisés pour y doser les concentrations de lactate et les comparer avec celles obtenues des solutions de perfusion de la sonde lactate. À cet effet, des valeurs significativement plus faibles ($p < 0.05$) sont observées dans les dialysats (13.40 ± 0.93 mM).

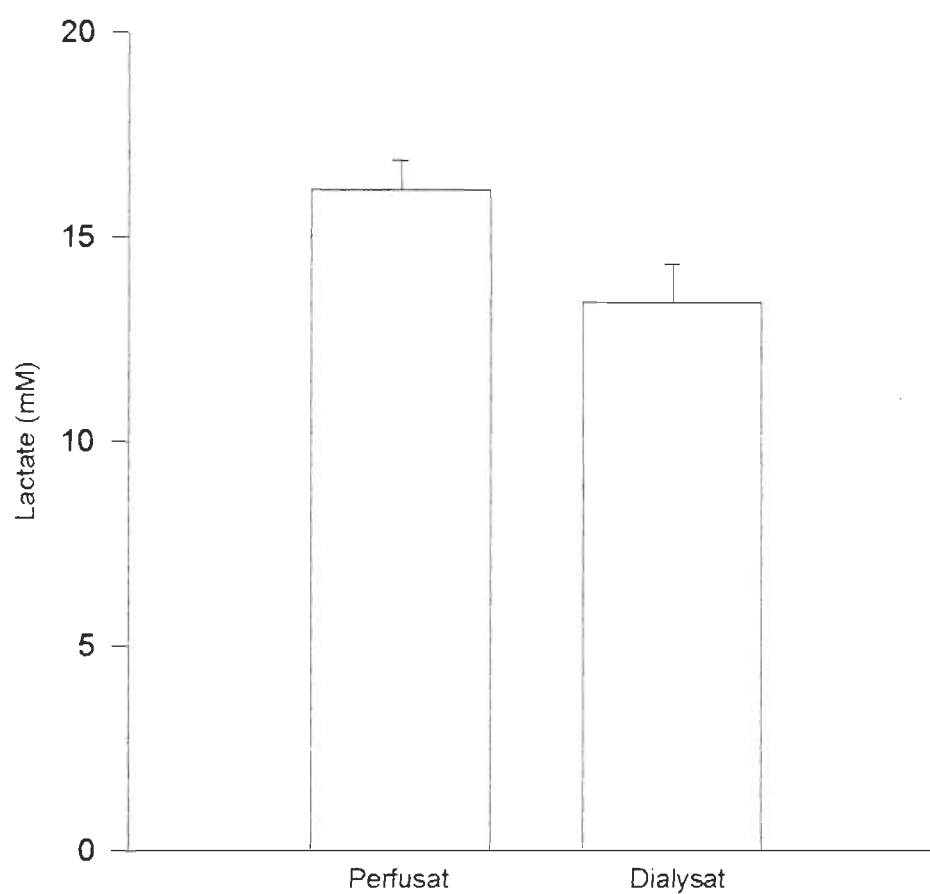


Figure 14. Concentration de lactate (mM) dans le perfusat et dans le dialysat (à 10 min de repos) de la sonde perfusée au lactate.

CHAPITRE V

DISCUSSION

L'objectif de cette étude consistait à vérifier l'effet inhibiteur du lactate sur la lipolyse adipocytaire. Notre hypothèse était la suivante: une concentration élevée de lactate aux alentours de l'adipocyte inhiberait son activité lipolytique, cela pouvant être vérifié par une diminution de la concentration de glycérol dans le dialysat. Les résultats obtenus ne permettent pas d'appuyer l'hypothèse de départ. En effet, les analyses de variances à plan A X Br n'ont démontré aucune différence significative entre les concentrations de glycérol issu de la sonde contrôle et celles de la sonde perfusée au lactate.

Ces résultats sont d'ailleurs appuyés par un protocole expérimental standardisant les paramètres métaboliques et hormonaux au repos et à l'exercice. Tel que présenté au chapitre précédent, les valeurs observées au repos de l'adrénaline, de la noradrénaline, de l'insuline, du glucose, des acides gras libres, du glycérol et du lactate sont en effet conformes aux valeurs plasmatiques normalement observées chez des individus au repos. À l'exercice, les concentrations plasmatiques d'adrénaline, de noradrénaline, d'acides gras libres et de glycérol augmentent alors que la concentration d'insuline diminue, cela étant également en accord avec la littérature (chapitre II). L'augmentation de la concentration de lactate observée au début de l'épreuve est en rapport avec le déficit d'O₂ se produisant normalement en début d'exercice. En effet, puisque la consommation et le besoin en O₂ diffèrent pendant la période de transition du repos à

l'exercice (même modéré), le métabolisme énergétique se trouve temporairement en déficit d'O₂ (Wilmore et Costill, 1994). La demande musculaire en ATP est à ce moment comblée par le métabolisme anaérobie dont le produit final est le lactate. En ce qui a trait à la glycémie, à l'exercice, peu de changement sont normalement observé en raison de la diminution de l'insulinémie. La diminution de la glycémie observée à l'exercice bien que significative, est relativement faible, les valeurs étant toujours très près de 5 mM. Néanmoins, cette diminution peut s'expliquer par la durée de l'épreuve et le niveau d'entraînement des sujets. Chez des sujets n'étant pas spécifiquement entraînés pour une épreuve de longue durée, la glycémie diminue graduellement pouvant atteindre des valeurs de l'ordre de 3 mM après 180 minutes d'exercice (Wilmore et Costill, 1994).

Tout comme les résultats d'analyses du plasma, nous pouvons présumer que les concentrations de glycérol contenu dans le dialysat au repos et à l'exercice sont normales. D'abord, la concentration de glycérol augmente à l'exercice comme c'est le cas pour le glycérol plasmatique. De plus, certains auteurs suggèrent une concentration de glycérol plus élevée dans le tissu adipeux que dans le plasma (Hagström-Toft, Enoksson, Moberg, Bolinder et Arner, 1997). En exposant les concentrations de glycérol des dialysats à un modèle mathématique tenant compte de la capacité de récupération de la sonde (chapitre III), nous pourrions appuyer les résultats de ces auteurs.

Ainsi, compte tenu des résultats non-significatifs obtenus entre la sonde contrôle et la sonde lactate (glycérol), et des résultats standards des paramètres métaboliques et

hormonaux, nous ne pouvons confirmer une inhibition directe de l'activité lipolytique adipocytaire par le lactate. Aussi, dans le présent chapitre, nous exposerons différentes hypothèses physiologiques et méthodologiques pour tenter une explication.

Effet inhibiteur du lactate sur la mobilisation des AGL

Rappelons tout d'abord que notre problématique générale a été fondée sur l'effet inhibiteur du lactate sur la mobilisation des AGL, suggéré par les auteurs ayant étudié le sujet (Boyd et al., 1974; Fredholm, 1971; Issekutz et Miller, 1962). Cependant certaines conclusions de ces études s'opposaient en ce qui a trait aux concentrations de glycérol pendant une perfusion au lactate. Spécifiquement, Fredholm (1971) observa une inhibition de la mobilisation des AGL par une perfusion au lactate (10 mM) sans modification de la concentration de glycérol. L'auteur conclut à cet effet que le lactate inhibait la mobilisation des AGL sans affecter la lipolyse. Boyd et al. (1974) observèrent également une inhibition de la mobilisation des AGL par une perfusion au lactate (9 mM) cependant celle-ci était accompagnée d'une diminution de la concentration de glycérol, suggérant ainsi un effet antilipolytique du lactate.

En regard à cette opposition retrouvée dans la littérature, notre hypothèse de recherche se voulait une réponse à la question suivante: le lactate inhibe-t-il la mobilisation des AGL seule ou inhibe-t-il préalablement la lipolyse? Compte tenu de l'effet non-significatif du lactate sur la concentration de glycérol dans le dialysat, nous devons considérer l'éventualité que celui-ci peut diminuer la mobilisation des AGL et/ou augmenter la réestérification sans pour autant inhiber la lipolyse adipocytaire. Cet

effet sur l'adipocyte permettrait de contrôler la sortie des AGL afin qu'ils ne soient pas excédentaires en rapport avec leur taux d'oxydation. Quant à la diffusion continue du glycérol même en présence de lactate, cela permettrait d'offrir un second substrat énergétique qui par la néoglucogenèse contribuerait à maintenir la glycémie à l'exercice intense. Le prélèvement des AGL dans le dialysat permettrait, dans les mêmes conditions expérimentales que cette étude, de vérifier cette hypothèse.

Effet indirect du lactate par la néoglucogenèse

Bien que son titre ne le révèle pas directement, ce projet de recherche traite de l'interrelation du métabolisme des glucides et des lipides. En particulier, l'effet inhibiteur du lactate sur la lipolyse adipocytaire permettrait d'attribuer un rôle de régulateur à la glycolyse. Récemment, Coyle, Jeukendrup, Wagenmakers et Saris (1997) se sont également intéressés au rôle potentiellement régulateur du métabolisme des glucides à l'exercice. L'objectif de leur étude consistait à vérifier l'effet d'une hyperglycémie et une hyperinsulinémie, induites par une ingestion de glucose pré-exercice, sur le niveau d'oxydation des lipides à l'exercice. Leurs résultats ont démontré une diminution de l'oxydation des acides gras (AG) palmitiques et une diminution de la disponibilité des acides gras libres plasmatiques. Les chercheurs concluent qu'une plus grande disponibilité du glucose provoquant une hyperglycémie et une hyperinsulinémie (a) inhibe l'oxydation des AG palmitiques en limitant leur transport à l'intérieur de la mitochondrie de la cellule musculaire et (b) inhibe également la mobilisation des acides gras libres. Cette action concertée aurait pour but d'une part de diminuer la disponibilité

du substrat à partir de son origine (*e.g.* adipocyte) et d'autre part de limiter son utilisation par le muscle squelettique, cela afin d'agir de façon concomitante avec l'augmentation de l'utilisation du glucose comme substrat énergétique.

Nous savons par ailleurs que le lactate en circulation pénètre dans le foie et par le cycle de l'acide lactique est transformé en pyruvate puis en glucose 6-phosphate pour être remis en circulation dans le sang sous forme de glucose. Ce cycle de transformation est également appelé néoglucogenèse et dans certaines conditions contribue à maintenir la glycémie (Houston, 1995). Il est donc possible qu'une quantité accrue de lactate inhibe la lipolyse et/ou la mobilisation des AGL adipocytaires de façon indirecte par la néoglucogenèse. Le glucose pourrait inhiber la sortie des AGL sans affecter l'activité lipolytique cela en augmentant la réserve de glycérol 3-phosphate intra-adipocytaire qui favorise l'estérification des AGL (Murray et al., 1995). D'une autre façon, une plus grande disponibilité du glucose pourrait avoir un effet antilipolytique en augmentant la concentration d'insuline. Celle-ci inhibe l'activité lipolytique en diminuant la quantité d'AMPc intracellulaire et en rendant la lipase hormonosensible inactive par sa déphosphorylation (chapitre II).

Cette hypothèse permettrait d'expliquer les résultats mitigés obtenus par la perfusion locale au lactate dans le tissu adipeux. Le lactate perfusé localement en très faible quantité ne pourrait, suite aux transformations subies dans le foie (néoglucogenèse) et sa remise en circulation sous forme de glucose, affecter la glycémie et/ou l'insulinémie. Cependant, cette hypothèse n'est pas soutenue par les résultats de

Boyd et al. (1974) et Issekutz et Miller (1962). En effet, aucune différence significative n'a été observée dans ces études quant aux concentrations d'insuline et de glucose pendant la perfusion au lactate ou à l'acide lactique.

Technique de microdialyse et perfusion au lactate

D'autre part, une différence significative ($p < 0.05$) est observée entre la concentration moyenne de lactate des perfusats (16.20 ± 0.72 mM) et celle des dialysats (13.40 ± 0.93 mM) à 10 min de la période de repos. Cela confirme qu'une quantité de lactate diffuse dans le liquide interstitiel des adipocytes tel que nous le désirions. Cependant, notre intention en utilisant une concentration de 16 mM de lactate dans le perfusat consistait à reproduire dans le tissu adipeux une concentration de lactate voisine de celle observée à l'exercice très intense (~ 10 mM). Une concentration plus faible de lactate dans le dialysat (contre le perfusat) nous indique que la concentration du milieu extracellulaire est plus faible que celle du perfusat mais ne nous renseigne pas sur la concentration réelle dans le liquide interstitiel.

La différence de concentration observée entre le perfusat et le dialysat (~ 3 mM) ne peut être associée directement à la concentration de lactate dans le liquide interstitiel puisque le volume et la cinétique des deux milieux (sondes et milieu extra-cellulaire) diffèrent. Afin de s'assurer que les conditions expérimentales aient permis d'obtenir une concentration élevée de lactate dans le tissu adipeux, nous avons cru nécessaire d'effectuer une simulation de perfusion *in vitro*. Du salin physiologique et du lactate (16 mM) ont donc été perfusés dans 4 tubes Eppendorf contenant respectivement 250 μ l,

500 μ l, 1000 μ l et 1500 μ l de salin physiologique. Des échantillons de salin contenu dans les tubes furent recueillis après 1, 3, 6 et 20 heures de perfusion pour analyse. Le volume de liquide interstitiel en contact avec la sonde étant très près de zéro, nous avons utilisé pour chacun des temps, les concentrations des 4 tubes Eppendorf afin de les extrapoler à un volume zéro. Après 1, 2 et 3 heures de perfusion, les concentrations interstitielles de lactate ont été estimées respectivement à 1.33 mM, 5.00 mM et 8.68 mM. En ce qui a trait à la concentration obtenue après saturation (20 heures), celle-ci fut de 14.85 mM de lactate pour un volume de 250 μ l, très peu de variations ont été observées en fonction des volumes.

Les valeurs obtenues à 2 (5.00 mM) et 3 heures (8.68 mM) de perfusion *in vitro*, correspondent aux temps 60 min et 120 min de la période d'exercice du protocole expérimental. Afin de connaître la concentration réelle de lactate dans le liquide interstitiel des adipocytes, nous devons ajouter à 5.00 mM et 8.68 mM les concentrations de lactate plasmatique obtenues à 60 min (1.92 mM) et 120 min (1.54 mM) de la période d'exercice. Nous estimons ainsi à 6.92 mM et 10.12 mM de lactate respectivement à la mi-chemin et à la fin de la période d'exercice, les concentrations en contact avec les adipocytes étudiés. Nous devons ainsi rejeter la possibilité que le lactate perfusé n'ait pas été en concentration suffisante pour reproduire un exercice d'intensité élevée en considérant de plus qu'il s'additionne au lactate déjà contenu dans le tissu adipeux.

Autres mécanismes inhibiteurs

Puisque les résultats obtenus ne permettent pas d'attribuer un effet antilipolytique au lactate, nous devons aussi envisager qu'il n'ait aucun effet direct ou indirect sur le métabolisme du tissu adipeux. Bien que les trois groupes d'auteurs (Boyd et al., 1974; Fredholm, 1971; Issekutz et Miller, 1962) ayant étudié le sujet aient observé une diminution de la concentration des AGL en présence de lactate, plus récemment Ferrannini, Natali, Bonadonna, De Kreutzemberg, Delprato et Santoro (1993) contredisaient ces résultats. Ces derniers n'ont observé chez l'humain aucun effet régulateur sur la lipolyse, la production de glucose hépatique et l'utilisation de glucose par le muscle squelettique en présence d'une hyperlactatémie. Ces auteurs ont cependant infusé une quantité de lactate ne permettant pas d'obtenir une concentration plasmatique similaire à ce que l'on observe à l'exercice intense. De plus, leur protocole expérimental se déroulant au repos, plusieurs facteurs métaboliques et hormonaux n'ont pu être reproduits.

Les facteurs stimulant et inhibant la mobilisation des AGL selon l'intensité de l'exercice ne sont pas encore clairement connus. Plusieurs auteurs (Jones et al., 1980; Romijn, Coyle, Sidossis, Gastaldelli, Horowitz, Ender et Wolfe, 1993) ont observé une mobilisation des AGL plus faible à l'exercice intense qu'à l'exercice modéré. Jones et al. (1980) ont de plus observé une concentration de glycérol plasmatique plus élevée à l'exercice intense. Ces résultats permettent d'une part de croire qu'il y a inhibition de la mobilisation des AGL à l'exercice intense et d'autre part que celle-ci n'est pas causée

par une diminution de l'activité lipolytique. Outre une concentration élevée de lactate, d'autres mécanismes pourraient également intervenir dans le contrôle de l'activité lipolytique et la mobilisation de AGL à l'exercice intense.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre II, le ratio AGL/albumine pourrait constituer un moyen de régulation de la mobilisation des AGL dans le plasma. En effet, comme le suggère Bülow et Madsen (1986) lorsque la quantité d'AGL dépasse la capacité des molécules d'albumine à les transporter, on observe deux rétroactions (a) une augmentation de la réestérification des AGL et (b) une augmentation de la résistance vasculaire du tissu adipeux. À l'exercice intense, le patron de sélection des substrats est modifié en faveur d'une plus grande activité glycolytique. La stimulation β -adrénergique sur les adipocytes étant toujours présente, la quantité d'AGL non-utilisés pourrait s'en trouver augmentée, lesquels, lorsqu'ils sont excédentaires entraînent une augmentation de la réestérification et une vasoconstriction du tissu adipeux. Romijn et al. (1993) ont observé une diminution de la mobilisation des AGL à l'exercice intense suivie d'une augmentation en récupération. Les AGL mobilisés en récupération pourraient être issus de triacylglycérols adipocytaires préalablement hydrolysés et retenus dans le tissu adipeux par une résistance vasculaire accrue.

Les résultats du dosage de l'éthanol de la sonde lactate (figure 13) expriment qu'une vasoconstriction s'est manifestée dans le tissu adipeux en période de récupération. Par ailleurs, on observe également une augmentation plus marquée de la concentration des AGL plasmatiques à 10 min de récupération (1.610 ± 0.1522 mM)

(figure 7). Cette vasoconstriction pourrait être consécutive à l'augmentation du ratio AGL/albumine qui serait à ce moment potentiellement égal ou supérieure à 3, soit le ratio moléculaire marquant une augmentation de la résistance vasculaire du tissu adipeux (Bülow, 1993).

Dans l'étude menée par Boyd et al. (1974), les sujets participaient à un protocole d'exercice sollicitant seulement 40% du $\dot{V}O_2$ max alors qu'une diminution significative des concentrations de glycérol et d'AGL fut observée en présence d'une hyperlactatémie plasmatique (8.8 ± 0.31 mM). Jones et al. (1980) ont observé une concentration de glycérol plasmatique élevée à l'exercice intense bien qu'une résistance vasculaire accrue l'aurait théoriquement diminuée. L'augmentation du ratio AGL/albumine demeure néanmoins le ou l'un des principaux facteurs inhibiteurs de la mobilisation des AGL lors d'un exercice d'intensité élevée. Cette hypothèse pourrait être vérifiée dans une étude subséquente où par la microdialyse, on prélèverait les AGL et où on perfuserait une concentration connue d'éthanol afin de vérifier la vascularisation du tissu adipeux lors d'un exercice progressif maximal.

Enfin, deux autres hypothèses sont aussi suggérées afin d'expliquer l'action du lactate sur l'adipocyte. Le lactate pourrait entraîner une diminution de la quantité d'AMP cyclique intra-adipocytaire, inhibant ainsi l'activité lipolytique. Bien que Fain et Shephard (1976) aient observé ce phénomène dans des conditions *in vitro*, ils n'ont constaté aucune inhibition de la lipolyse. Le lactate pourrait également diminuer l'affinité des récepteurs β -adrénergiques comme De Pergola, Cignarelli, Nardelli,

Garruti, Corso, Di Paolo, Cardone et Giorgino (1989) l'ont observé. Cependant, ce phénomène se produit en présence d'une concentration de lactate supérieure à 16 mM, exceptionnellement observée à l'exercice. Ces deux hypothèses proposent encore une inhibition de l'activité lipolytique induite par le lactate. Notre étude tend par contre à démontrer le contraire.

CHAPITRE VI

CONCLUSION

Rappelons que les études s'étant intéressées à l'effet inhibiteur du lactate, convenaient d'une diminution de la concentration d'AGL en présence de lactate (Boyd et al., 1974; Fredholm, 1971; Issekutz et Miller, 1962). La divergence dans les résultats de ces études se situait au niveau de la libération de glycérol, cet indice nous renseignant sur la présence d'un effet inhibiteur de la lipolyse. Fredholm (1971) affirmait pour sa part qu'une concentration accrue de lactate dans le tissu adipeux favorise la réestérification des AGL sans effet sur l'activité lipolytique et la libération de glycérol. Contrairement au premier auteur, les résultats de Boyd et al. (1974) ont démontré une diminution de la concentration d'AGL et de glycérol en présence d'une concentration élevée de lactate. À cet égard, notre étude tend à confirmer l'hypothèse de Fredholm (1971). Jones et al. (1980) vont également dans le même sens puisque ces auteurs ont observé une diminution de la concentration des AGL plasmatiques accompagnée d'une augmentation de la concentration de glycérol lors d'un exercice intense. Cependant, nous ne pouvons confirmer cette hypothèse sans avoir mesuré les AGL dans les mêmes conditions expérimentales réalisées dans cette étude. Le développement d'un protocole de recherche utilisant des périodes de prélèvement plus longues (*e.g.* 30 min) permettrait le dosage de différents métabolites (AGL, glycérol...).

Bien que nos résultats, confrontés à la littérature, convergent dans une direction, nous ne pouvons nous soustraire des hypothèses évoquées au chapitre V. En effet,

d'autres mécanismes d'ordre métabolique et nerveux pourraient également contrôler l'activité lipolytique et la mobilisation des AGL lors d'un exercice de grande intensité; cela afin de créer un équilibre entre la sortie des AGL et leurs utilisations. Ces hypothèses, (a) un effet inhibiteur indirect du lactate via la néoglucogenèse et (b) une diminution de la mobilisation des AGL via une augmentation du ratio AGL/albumine, devront être investiguées par des protocoles expérimentaux appropriés.

Nos résultats nous permettent cependant d'affirmer qu'une concentration interstitielle élevée de lactate (~15 mM) dans le tissu adipeux n'inhibe pas la lipolyse adipocytaire contrairement à ce qui a longtemps été prétendu dans la littérature. S'il y a lieu, le lactate agirait à un autre niveau ou de façon indirecte sur le métabolisme du tissu adipeux.

RÉFÉRENCES

- Arner, P. (1988). Control of lipolysis, and its relevance to development of obesity in man. *Diabetes Metab. Rev.*, 4, 507-515.
- Arner, P. (1995). Impact of exercise on adipose tissue metabolism in humans. *Int. J. Obesity*, 19, S18-S21.
- Arner, P., et Bolinder, J. (1991). Microdialysis of adipose tissue. *J. Internal Med.*, 230, 381-386.
- Arner, P., Kriegholm, E., Engfeldt, P., et Bolinder, J. (1990). Adrenergic regulation of lipolysis in situ during rest and exercise. *J. Clin. Invest.*, 85, 893-898.
- Boyd A.E., Giamber, S.R., Mager, M. et Lebovitz, H.E. (1974). Lactate inhibition of lipolysis in exercising man. *Metabolism*, 23, 531-542.
- Brooks, G.A. (1985). "Anaerobic threshold": An evolving concept. *Med. Sci. Sports Exercise*, 17, 22-31.
- Brooks, G.A., et Mercier, J. (1994). Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept. *J. Appl. Physiol.*, 76, 2253-2261.
- Bülow, J. (1993). Lipid mobilization and utilization. In J.R. Portman (Ed.), *Principles of Exercise Biochemistry* (2nd ed.) (pp. 158-185). Basel: Karger.
- Bülow, J. (1983). Adipose tissue blood flow during exercise. *Dan. Med. Bull.*, 30, 85-100.
- Bülow, J. (1982). Subcutaneous adipose tissue blood flow and triacylglycerol mobilization during prolonged exercise in dogs. *Pflügers Arch.*, 392, 230-234.

- Bülow, J., et Madsen, J. (1986). Regulation of lipid mobilization during exercise. *Scand. J. Sports Sci.*, 8, 19-26.
- Bülow, J., et Madsen, J. (1981). Influence of blood flow on fatty acid mobilization from lipolytically active adipose tissue. *Pflügers Arch.*, 390, 169-174.
- Bülow, J., Madsen, J., Astrup, A., et Christensen, N.J. (1985). The effect of high free fatty acid/albumin molar ratios on the perfusion of adipose tissue *in vivo*. *Acta. Physiol. Scand.*, 125, 661-667.
- Coyle, E.F., Jeukendrup, A.E., Wagenmakers, A.J.M. et Saris, W.H.M. (1997). Fatty acid oxydation is directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise. *Am. J. Physiol.*, 273, E268-E275
- Connett, R.J., Honig, C.R., Gayeski, T.E.J. et Brooks, G.A. (1990). Defining hypoxia: a systems view of $\dot{V}O_2$, glycolysis, energetics, and intracellular PO_2 . *J. Appl. Physiol.*, 68, 833-842.
- Costill, D.L., Coyle, E., Dalsky, G., Evans, W., Fink, W. et Hoopes, D. (1977). Effects of elevated plasma FFA and insulin on muscle glycogen usage during exercise. *J. Appl. Physiol.*, 43, 695-699.
- Crampes, F., Rivière, D., Beauville, M., Marceron, M., et Garrigues, M. (1989). Lipolytic response of adipocytes to epinephrine in sedentary and exercise-trained subjects: sex-related differences. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 59, 249-255.
- de Glisezinski, I., Harant, I., Crampes, F., Trudeau, F., Felez, A., Cottet-Émard, J.M., Garrigues, M. et Rivière, D. (1996). *Effect of carbohydrate ingestion on adipose*

tissue during long-lasting exercise in trained men. Manuscrit soumis pour publication.

- De Pergola, G., Cignarelli, M., Nardelli, G., Garruti, G., Corso, M., Di Paolo, S., Cardone, F. et Giorgino, R. (1989) Influence of lactate on isoproterenol-induced lipolysis and beta-adrenoceptors distribution in human fat cells. *Horm. Metab. Res.*, *21*, 210-213.
- Deuster, P.A., Chrousos, G.P., Luger, A., DeBolt, J.L., Bernier, L.L., Trostmen, V.H., Kyle, S.B., Montgomery L.C., et Loriaux, D.L. (1989). Hormonal and metabolic responses of untrained, moderately trained, and highly trained men to three exercise intensities. *Metabolism*, *38*, 141-148.
- Eliasson, A. (1991). *Application Note*. Stockholm, Sweden: CMA/Microdialysis AB.
- Fain, J.N. et Shephard, R.E. (1976). Inhibition of adenosine 3':k'-monophosphate accumulation in white fat acids, lactate, and beta-hydroxybutyrate. *J. Lipid Res.*, *17*, 377-385.
- Ferrannini, E., Natali, A., Brandi, L.S., Bonadonna, R., De Kreutzemberg, S.V., Delprato, S. et Santoro, D. (1993). Metabolic and thermogenic effects of lactate infusion in humans. *Am. J. Physiol.*, *265*, E504-E512.
- Fitts, R.H. et Metzger, J.M. (1993). Mechanisms of Muscular Fatigue. In J.R. Portman (Ed), *Principles of Exercise Biochemistry* (2nd ed) (pp. 248-268). Basel: Karger.
- Fredholm, B.B. (1971). The effect of lactate in canine subcutaneous adipose tissue in situ. *Acta. Physiol. Scand.*, *81*, 110-123.

- Fritz, J.B. (1963). Carnitine and its role in fatty acid metabolism. *Adv. Lipid Res.*, 1, 285-334.
- Galbo, H. (1983). *Hormonal and metabolic adaptation to exercise*. Stuttgart: Thieme.
- Gollnick, P.D. (1985). Metabolism of substrates: energy substrate metabolism during exercise and as modified by training. *Fed. Proc.*, 44, 353-357.
- Hagström-Toft, E., Enoksson, S., Moberg, E., Bolinder, J. et Arner, P. (1997). Absolute concentrations of glycerol and lactate in human skeletal muscle, adipose tissue, and blood. *Am. J. Physiol.*, 273, E584-E592.
- Houston, M.E. (1995). Lipid Metabolism. In *Biochemistry Primer for Exercise Science* (1st ed.) (pp. 87-101). Champaign: Human Kinetics.
- Issekutz, B., Jr., et Miller, H.I. (1962). Plasma free fatty acids during exercise and the effect of lactic acid. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 110, 237-245.
- Jacobson, I., Sanberg, M. et Hamberger, A. (1985). Mass transfer in brain dialysis devices - a new method for estimation of extracellular amino acids concentration. *J. Neurosci. Meth.*, 15, 263-268.
- Jones, N.L., Heigenhauser, G.J., Kuksis, A., Matsos, C.G., Sutton, J.R. et Toews, C.J. (1980). Fat metabolism in heavy exercise. *Clin. Sci.*, 59, 469-478.
- Kather, H., Pries, J., Schrader, V., et Simon, B. (1980). Inhibition of human fat cell adenylylate cyclase mediated via alpha-adrenoceptors. *Eur. J. Clin. Invest.*, 10, 345-348.

- Kather, H., Schroder, F. et Simon, B. (1982). Microdetermination of glycerol using bacterial NADH-linked luciferase. *Clin. Chim. Acta.*, 120, 295-300.
- Kather, H., et Simon, B. (1977). Catecholamine-sensitive adenylate cyclase of human fat cell ghosts: a comparative study using different beta-adrenergic agents. *Metabolism*, 24, 1179-1182.
- Kirkwood, S.P., Packer, L., Brooks, G.A. (1987). Effects of endurance training on a mitochondrial reticulum in limb skeletal muscle. *Arch. Biochem. Biophys.*, 255, 80-88.
- Larsen, T., Myhre, K., Vik-Mo, H., et Mjös, O.D. (1981). Adipose tissue perfusion and fatty acid release in exercising rats. *Acta. Physiol. Scand.*, 113, 111-116.
- Lehmann, M., Wybitul, K., Spori, U., et Keul, J. (1982). Catecholamines, cardiocirculatory, and metabolic response during graduated and continuously increasing exercise. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 50, 261-271.
- Lim, H.H. et Buttery, J.E. (1977). Determination of ethanol in serum by an enzymatic PMS-INT colorimetric method. *Clin. Chim. Acta.*, 75, 9-12.
- Madsen, J., Bülow, J., et Nielsen, N.E. (1986). Feedback regulation of fatty acid mobilization by arterial free fatty acid concentration. *Acta. Physiol. Scand.*, 127, 161-166.
- Mauriège, P., Prud'homme, D., Lemieux, S., Tremblay, A., et Després, J.P. (1995). Regional differences in adipose tissue lipolysis from lean and obese women: existence of postreceptor alterations. *Am. J. Physiol.*, 269, E341-E350.

- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., et Rodwell V.W. (1995). Transport et emmagasinage des lipides. *In Précis de biochimie de Harper* (8^e éd.) (pp. 285-303). Québec: Les Presses de l'Université Laval.
- Nilsson, N.Ö., Stralfors, P., Fredrikson, G., et Belfrage, P. (1980). Regulation of adipose tissue lipolysis: effects of noradrenaline and insuline on phosphorylation of hormone-sensitive lipase and on lipolysis in intact rat adipocyte. *FEBS lett.*, 111, 125-130.
- Noy, A., Donnelly, T.M. et Zakim, D. (1986). Physical-chemical model for the entry of water-insoluble compounds into cells. Studies of fatty acid uptake by the liver. *Biochemistry*, 25, 2013-2021.
- Nurjhan, N., Kennedy, F., Consoli, A., Martin, C., Miles, J., et Gerich, J. (1988). Quantification of the glycolytic origin of plasma glycerol: implications for the use of the rate of appearance of plasma glycerol as an index of lipolysis *in vivo*. *Metabolism*, 37, 386-389.
- O'Brien, M.J., Viguie, C.A., Mazzeo, R.S., et Brooks, G.A. (1993). Carbohydrate dependence during marathon running. *Med. Sci. Sports Exercise*, 25, 1009-1017.
- Paul, P. (1975). Effect of long lasting physical exercise and training on lipid metabolism. In Howald, Poortmans (Eds), *Metabolic adaptation to prolonged physical exercise* (pp. 156-193). Basel: Birkhäuser.
- Potter, B.J., Sorrentino, D., et Berk, P.D. (1989). Mechanisms of cellular uptake of free fatty acids. *Annu. Rev. Nutr.*, 9, 253-270.

- Romijn, J.A., Coyle, E.F., Sidossis, L.S., Gastaldelli, A., Horowitz, J.F., Endert, E. et Wolfe, R.R. (1993). Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am. J. Physiol.*, 265, E380-E391.
- Scow, R.O. (1965). Perfusion of isolated adipose tissue: FFA release and blood flow in rat parametrial fat body. In *Handbook of Physiology* (pp. 437-453). Washington: American Physiological Society.
- Terjung, R.L., Budohoski, L., Nazar, K., Kobrùn, A., et Kaciuba-Uscilko, H. (1982). Chylomicron triglyceride metabolism in resting and exercising fed dogs. *J. Appl. Physiol.*, 52, 815-820.
- Turcotte, L.P., Kiens, B., et Richter, E.A. (1991). Saturation kinetics of palmitate uptake in perfused skeletal muscle. *FEBS Lett.*, 279, 327-329.
- Ungerstedt, U. (1984). Measurements of neurotransmitter release by intracranial dialysis. In A.C. Marsen (ed). *Measurements of Neurotransmitter Release In Vivo* (pp. 81-105). New York: Wiley.
- Wilmore, J.H. et Costill, D.L. (1994). Basic Energy Systems. In *Physiology of Sport and Exercise* (pp 92-121). Champaign: Human Kinetics.
- Wolfe, R.R., Klein, S., Carraro, F., et Weber, J.M. (1990). Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am. J. Physiol.*, 158, E382-E389.